



Universidade do Minho
Escola de Engenharia

Daniela Patrícia Bernardino Mesquita

Monitorização e Análise de Imagem de um Reactor Descontínuo Sequencial de Lamas Activadas

Tese de Mestrado em
Biotecnologia - Engenharia de Bioprocessos

Trabalho efectuado sob a orientação
Professor Doutor Eugénio Manuel de Faria Campos Ferreira
Co-Orientação
Professora Doutora Maria Alice Zarur Coelho

Agosto de 2006

É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA TESE/TRABALHO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.

Universidade do Minho, ____/____/____

Assinatura: _____

ao Pedro
aos meus pais: Júlia e Francisco

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar a minha gratidão a várias pessoas que acompanharam a elaboração deste trabalho.

Ao orientador, Professor Doutor Eugénio Ferreira, pelo incentivo na realização deste trabalho, pelo apoio e amizade demonstrada durante 2 anos de trabalho em conjunto, e pela coordenação e sugestões sempre pertinentes para a realização da dissertação.

À co-orientadora, Professora Doutora Alice Coelho, pela recepção calorosa na Universidade Federal do Rio de Janeiro, pela coordenação no laboratório, pela amizade e pelas sugestões sempre importantes para a realização de um trabalho interessante.

Ao Luís Amaral uma palavra de apreço e gratidão, pois sem ele seria impossível a compreensão dos programas de análise de imagem dos flocos.

Ao Professor Doutor José Teixeira, director do Mestrado em Biotecnologia, pelos ensinamentos durante a licenciatura em Engenharia Biológica e por ter aceite a minha candidatura ao Mestrado em Biotecnologia.

À Professora Belkis Valdman, directora da Escola de Química, pela simplicidade e simpatia na recepção.

A todos os professores da pós-graduação em Biotecnologia do Departamento de Engenharia Biológica, pela simpatia e pelos ensinamentos prestados.

Às professoras de pós-graduação da Universidade Federal do Rio de Janeiro Professora Doutora Magalli, Professora Doutora Lúcia, Professora Doutora Selma e Professora Doutora Andreia pelos ensinamentos nas suas disciplinas e pela simpatia que sempre demonstram.

A todos os colegas do grupo BIOSE (*Biological Systems Engineering*) da Universidade Federal do Rio de Janeiro, principalmente aos alunos de pós-graduação, Priscilla Filomena, Etel, Priscilla Finotelli, Yovanka e Clarice, que me proporcionaram um excelente ambiente de trabalho e pela amizade que sempre demonstraram. Adoro vocês!

A todos os amigos do Departamento de Engenharia Biológica da Universidade do Minho, Ana Luísa, Flávio, Cátia, Aninha, Ricardo, D. Sameiro e Sr. Santos, pelos bons momentos que me proporcionaram desde a chegada do Brasil.

À Roberta por todos os bons momentos durante os nove meses passados no Rio de Janeiro. Obrigada pelos passeios e pela amizade!

Aos meus pais e ao Pedro agradeço tudo, desde a confiança que sempre depositaram em mim, a paciência nos momentos de preocupação e ainda o carinho que foi extremamente importante durante estes dois anos de mestrado. Amo-vos muito!

MONITORIZAÇÃO E ANÁLISE DE IMAGEM DE UM REACTOR DESCONTÍNUO SEQUENCIAL DE LAMAS ACTIVADAS

SUMÁRIO

Este trabalho incidiu na monitorização de um Reactor Descontínuo Sequencial à escala laboratorial e na análise de imagem do biosistema, perturbado com concentrações crescentes de sal. Após a adaptação microbiana, foi avaliado o processo de nitrificação através das remoções de azoto amoniacal, bem como a remoção de matéria orgânica em termos de *CQO*, sob adições crescentes de NaCl (0,5 % a 6,0 %). Efectuou-se também o acompanhamento de nitrato e de fosfato do sistema. Pretendeu-se avaliar a sedimentabilidade das lammas através da determinação do índice volumétrico de lammas e da turbidez. As ferramentas de análise de imagem foram utilizadas no processamento das imagens adquiridas durante as perturbações do sistema e permitiram determinar vários parâmetros estruturais e morfológicos. A partir de técnicas de estatística multivariável foi possível aferir quais os parâmetros preponderantes na avaliação da sedimentação das lammas.

Para este estudo, adoptou-se uma estratégia de enchimento por pulsos visando a obtenção de elevadas percentagens de remoção de azoto amoniacal do efluente, minimizando as concentrações inibitórias para os microrganismos no interior do reactor. As imagens captadas no final de cada teste foram submetidas a um programa de processamento (*IMAGE J*) e posteriormente a outro programa de determinação de parâmetros estruturais e morfológicos dos agregados microbianos (*MATLAB*).

Verificou-se que o sistema biológico adoptado é eficiente no tratamento de efluentes industriais. Contudo, após a adição de elevadas concentrações de sal o sistema sofre algumas perturbações devido à variação da força iónica do meio que provoca a plasmólise celular e consequentemente a desfloculação da biomassa indicada pelo aumento da turbidez do efluente. Os resultados de turbidez correlacionam-se com os sólidos suspensos voláteis. Verificou-se também que o índice volumétrico de lammas deve ser complementado pela análise da turbidez do efluente de forma a estimar correctamente as características morfológicas e de sedimentabilidade dos agregados microbianos.

De referir ainda que com o aumento da concentração de NaCl não se verificaram alterações significativas nas várias classes de tamanhos estudadas. A análise dos mínimos quadrados parciais não permitiu a previsão do índice volumétrico de lammas nem de turbidez baseando apenas este estudo na morfologia e estrutura da biomassa agregada, pois existe uma grande quantidade de biomassa dispersa no sistema.

MONITORING AND IMAGE ANALYSIS OF AN ACTIVATED SLUDGE SEQUENCING BATCH REACTOR

ABSTRACT

The aim of the present work was to evaluate the performance of a Sequencing Batch Reactor through its monitoring and the activated sludge image analysis, disturbed with saline wastewater. After the sludge adaptation, it was observed ammonia removal rate related to the nitrification process and the organic load removal (expressed in *COD*) with increasing of NaCl concentration (0,5 % to 6,0 %). The nitrate and phosphate concentrations were also accompanied during this study. The sludge settleability was evaluated through the sludge volume index and turbidity determination. Several morphological and structural parameters of the activated sludge flocs were estimated by image analysis techniques and correlated with the settleability parameters. Multivariable statistical techniques were employed to determine the relationships between the aggregates and the operating parameters, survey the preponderant parameters in the evaluation of the sludge settleability.

For this study, a filling strategy with symmetric pulses was employed to improve ammonia removal efficiency, minimizing the inhibitory concentrations for conventional microorganisms inside the reactor. The activated sludge images acquired at the end of each test were submitted to processing software (*IMAGE J*) and afterwards applied to the software responsible for the structural and morphologic parameter determination (*MATLAB*).

It was verified that the biological system adopted is efficient for industrial wastewater treatment. However, after the addition of high salt concentrations this system is disturbed due to ionic strength variation that causes cellular plasmolysis and biomass deflocculation showed by the increase in effluent turbidity. Turbidity results have been shown to correlate quite well with the volatile suspended solids. It was also found that the sludge volume index evaluation must be complemented by turbidity analyses to correctly assess the morphological and settleability characteristics of the aggregated biomass.

Furthermore, no significant changes for all the studied classes were found with the increase on NaCl concentration. The multivariate partial least squares analysis did not allow for reliable sludge volume index or turbidity predictions based solely on the aggregated biomass morphology data or contents, given the high dispersed bacteria contents in the sludge.

ÍNDICE GERAL

ÍNDICE GERAL	IX
ÍNDICE DE FIGURAS	XI
ÍNDICE DE TABELAS	XIV
ÍNDICE DE SÍMBOLOS.....	XV
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. RELEVÂNCIA DO ESTUDO	2
1.2. OBJECTIVOS.....	4
1.3. EFLUENTES SALINOS	5
1.3.1. REFINARIAS.....	5
1.3.2. PROCESSAMENTO DE PEIXE	8
1.4. EFEITO DA SALINIDADE	11
1.5. PROCESSOS DE TRATAMENTO BIOLÓGICOS AERÓBIOS	14
1.5.1. LAMAS ACTIVADAS.....	15
1.5.2. REACTOR DESCONTÍNUO SEQUENCIAL (RDS).....	17
1.6. MICROBIOLOGIA DO PROCESSO.....	19
1.6.1. BACTÉRIAS	22
1.6.2. PROTOZOÁRIOS.....	25
1.7. REMOÇÃO BIOLÓGICA DE NUTRIENTES.....	27
1.7.1. REMOÇÃO DE AZOTO	27
1.7.2. REMOÇÃO DE FÓSFORO.....	33
1.8. ANÁLISE DE IMAGEM.....	34
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	39
2.1. DESCRIÇÃO DA UNIDADE EXPERIMENTAL	40
2.2. INÓCULO E ACLIMATAÇÃO	42
2.3. COMPOSIÇÃO DO EFLUENTE	43
2.4. DESEMPENHO DO REACTOR EM CONDIÇÕES SALINAS	44
2.4.1. ESTRATÉGIA PULSANTE.....	44
2.5. MÉTODOS ANALÍTICOS	46

2.5.1. DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE AZOTO AMONICAL.....	47
2.5.2. DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE NITRATO.....	47
2.5.3. DETERMINAÇÃO DA CQO	47
2.5.4. DETERMINAÇÃO DE SÓLIDOS SUSPENSOS VOLÁTEIS (SSV).....	47
2.5.5. DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE VOLUMÉTRICO DO LAMAS (IVL)	48
2.5.6. DETERMINAÇÃO DA TURBIDEZ DO SOBRENADANTE.....	48
2.5.7. DETERMINAÇÃO DO FOSFATO.....	48
2.6. AQUISIÇÃO E PROCESSAMENTO DE IMAGEM DAS LAMAS ACTIVADAS	48
2.6.1. IMAGE J	49
2.6.2. MATLAB	51
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
3.1. AVALIAÇÃO DA ACLIMATAÇÃO	56
3.2. DESEMPENHO PADRÃO DO SISTEMA.....	57
3.3. DESEMPENHO EM CONDIÇÕES SALINAS.....	61
3.4. MORFOLOGIA MICROBIANA	75
4. CONCLUSÕES.....	95
5. REFERÊNCIAS	99

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. COMPOSIÇÃO MÉDIA DO PETRÓLEO.	5
FIGURA 2. PROCESSAMENTO DO PETRÓLEO.	7
FIGURA 3. EXEMPLO DO PROCESSAMENTO DE SARDINHA EM LATA.	9
FIGURA 4. TIPOS DE TRATAMENTO BIOLÓGICO AERÓBIO.	15
FIGURA 5. TRATAMENTO DE EFLUENTES POR LAMAS ACTIVADAS.....	16
FIGURA 6. ESQUEMA DE FUNCIONAMENTO DE UM <i>RDS</i>	17
FIGURA 7. ESQUEMA DO MECANISMO DE DECOMPOSIÇÃO AERÓBIA.	20
FIGURA 8. A) <i>SPHAEROTILUS NATANS</i> ; B) <i>MICROTHRIX PARVICELLA</i> ; C) <i>THIOTHRIX SP.</i> ; D) <i>NOCARDIA SP.</i>	23
FIGURA 9. A) <i>VORTICELLA CONVALLARIA</i> ; B) <i>EUPLOTES</i> E <i>STYLONCHIA</i> ; C) <i>PARAMECIUM</i> ; D) <i>OPERCULARIA</i>	26
FIGURA 10. TRANSFORMAÇÃO DO AZOTO ORGÂNICO NOS PROCESSOS DE TRATAMENTO BIOLÓGICO (ADAPTADO DE METCALF & EDDY, 1991).	28
FIGURA 11. REMOÇÃO BIOLÓGICA DE FÓSFORO.....	33
FIGURA 12. <i>RDS</i> UTILIZADO NA REALIZAÇÃO DOS TESTES LABORATORIAIS.	41
FIGURA 13. PAINEL DE CONTROLO SUPERVISOR – OPERAÇÃO DO PROCESSO.....	41
FIGURA 14. SEQUÊNCIA DE ETAPAS UTILIZADA NA ESTRATÉGIA PULSANTE.....	44
FIGURA 15. VARIAÇÃO DO VOLUME DO REACTOR.	45
FIGURA 16. VARIAÇÃO DO OXIGÉNIO DISSOLVIDO.....	45
FIGURA 17. REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO PROCESSAMENTO E ANÁLISE DAS IMAGENS DOS FLOCOS MICROBIANOS.....	51
FIGURA 18. VARIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE AZOTO AMONIAL DURANTE O PERÍODO DE ACLIMATAÇÃO PARA CADA CONCENTRAÇÃO DE SAL EM ESTUDO.	56
FIGURA 19. PERFIL DAS CONCENTRAÇÕES DE AZOTO AMONIAL E DE NITRATO A 0,0 % SAL.	58
FIGURA 20. PERFIL DAS CONCENTRAÇÕES DE FOSFATO E DE <i>CQO</i> A 0,0 % SAL.	59
FIGURA 21. PERFIL CINÉTICO DAS CONCENTRAÇÕES FINAIS DE <i>CQO</i> PARA AS DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE SAL ESTUDADAS.	62
FIGURA 22. REMOÇÃO DE <i>CQO</i> PARA AS DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE SAL ESTUDADAS.	64

FIGURA 23. REMOÇÃO DE AZOTO AMONIAL PARA AS DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE SAL ESTUDADAS.....	65
FIGURA 24. VARIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE NITRATO NO FINAL DE CADA TESTE PARA AS DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE SAL ESTUDADAS.....	67
FIGURA 25. VARIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE FOSFATO NO FINAL DE CADA TESTE PARA AS DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE SAL ESTUDADAS.....	68
FIGURA 26. TURBIDEZ OBSERVADA PARA AS DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE SAL ESTUDADAS.	69
FIGURA 27. <i>IVL</i> OBSERVADO PARA AS DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE SAL ESTUDADAS.	71
FIGURA 28. VARIAÇÃO DA BIOMASSA COM O AUMENTO DA CONCENTRAÇÃO DE SAL NO EFLUENTE.	73
FIGURA 29. SEQUÊNCIA DE IMAGENS OBTIDAS DURANTE O PROCESSAMENTO EM <i>IMAGE J</i>	76
FIGURA 30. VARIAÇÃO DA <i>AT</i> DOS AGREGADOS COM O AUMENTO DA CONCENTRAÇÃO DE SAL.	77
FIGURA 31. VARIAÇÃO DO <i>DEQ_{MÉDIO}</i> DOS AGREGADOS COM O AUMENTO DA CONCENTRAÇÃO DE SAL.	77
FIGURA 32. VARIAÇÃO DO <i>DEQ</i> DOS AGREGADOS COM O AUMENTO DA CONCENTRAÇÃO DE SAL.	79
FIGURA 33. VARIAÇÃO DO NÚMERO DE AGREGADOS COM O AUMENTO DA CONCENTRAÇÃO DE SAL.	80
FIGURA 34. VARIAÇÃO DA ÁREA PERCENTUAL DE AGREGADOS COM O AUMENTO DA CONCENTRAÇÃO DE SAL.	81
FIGURA 35. ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS AOS PARÂMETROS DETERMINADOS.	82
FIGURA 36. VARIAÇÃO DOS PARÂMETROS MORFOLÓGICOS COM A CONCENTRAÇÃO DE SAL.	84
FIGURA 37. VARIAÇÃO DA COMPACIDADE DOS AGREGADOS COM O AUMENTO DA CONCENTRAÇÃO DE SAL.	85
FIGURA 38. VARIAÇÃO DA EXCENTRICIDADE DOS AGREGADOS COM O AUMENTO DA CONCENTRAÇÃO DE SAL.	85
FIGURA 39. VARIAÇÃO DA CONVEXIDADE DOS AGREGADOS COM O AUMENTO DA CONCENTRAÇÃO DE SAL.	86

FIGURA 40. VARIAÇÃO DA CONVEXIDADE DOS AGREGADOS COM O AUMENTO DA CONCENTRAÇÃO DE SAL.	86
FIGURA 41. PARÂMETROS <i>VIP</i> NA ANÁLISE POR <i>PLS</i> DO CONTEÚDO DE AGREGADOS MICROBIANOS PARA O <i>IVL</i>	88
FIGURA 42. REGRESSÃO LINEAR ENTRE O <i>IVL</i> DETERMINADO EXPERIMENTALMENTE (<i>IVL</i> OBSERVADO) E O <i>IVL</i> PREVISTO.	89
FIGURA 43. PARÂMETROS <i>VIP</i> NA ANÁLISE POR <i>PLS</i> DO CONTEÚDO DE AGREGADOS MICROBIANOS PARA A TURBIDEZ.	90
FIGURA 44. REGRESSÃO LINEAR ENTRE A TURBIDEZ DETERMINADA EXPERIMENTALMENTE (TURBIDEZ OBSERVADA) E A TURBIDEZ PREVISTA.	91
FIGURA 45. REGRESSÃO LINEAR ENTRE A TURBIDEZ E A ÁREA TOTAL DE AGREGADOS....	92
FIGURA 46. REGRESSÃO LINEAR ENTRE A TURBIDEZ DETERMINADA EXPERIMENTALMENTE E A CONCENTRAÇÃO DE BIOMASSA.	93

ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 1. PRODUTOS OBTIDOS NAS REFINARIAS DE PETRÓLEO (DICKNEIDER, 2002).	6
TABELA 2. SAÍDAS DE MATERIAIS NO PROCESSO DE DESSALINIZAÇÃO EM REFINAÇÃO (MARIANO, 2001).	8
TABELA 3. PARÂMETROS OBSERVADOS NOS EFLUENTES DE PROCESSAMENTO DE PESCADO (INTRASUNGKHA <i>ET AL.</i> , 1999).	10
TABELA 4. CONCENTRAÇÕES (G/L) EXISTENTES NA ÁGUA DO MAR (EDWARDS, 1990)....	21
TABELA 5. COMPOSIÇÃO DO EFLUENTE SINTÉTICO UTILIZADO PARA OS VÁRIOS TESTES REALIZADOS.	43
TABELA 6. PARÂMETROS MORFOLÓGICOS DETERMINADOS PELO PROGRAMA <i>MICROFLOCOS_PARAM</i>	52
TABELA 7. PERCENTAGENS DE REMOÇÃO OBTIDAS SEM INTERFERÊNCIA DE SAL E SEDIMENTAÇÃO DAS LAMAS.	60
TABELA 8. TABELA RESUMO COM ALGUNS ESTUDOS REALIZADOS PARA EFLUENTES SALINOS.	74
TABELA 9. VARIÁVEIS DE MAIOR IMPORTÂNCIA PARA O <i>IVL</i> E PARA A TURBIDEZ USANDO OS PARÂMETROS CHAVE DE CADA GRUPO DETERMINADO POR <i>PCA</i>	83

ÍNDICE DE SÍMBOLOS

<i>AGV</i>	– Ácidos Gordos Voláteis
<i>AT</i>	– Área Total de agregados
<i>C/N</i>	– Razão carbono orgânico/Azoto
<i>CBO</i>	– Carência Biológica de Oxigênio
<i>COT</i>	– Carbono Orgânico Total
<i>CQO</i>	– Carência Química de Oxigênio
<i>Deq</i>	– Diâmetro Equivalente dos agregados
<i>Deq_{médio}</i>	– Diâmetro Equivalente médio dos agregados
<i>E</i>	– Eficiência de Remoção
<i>EPS</i>	– Substâncias Poliméricas Extracelulares
<i>ETAR</i>	– Estação de Tratamento de Águas Residuais
<i>IVL</i>	– Índice Volumétrico de Lamas
<i>NH₃</i>	– Amoníaco
<i>NH₄⁺</i>	– ão Amônio
<i>NO₂⁻</i>	– Nitrito
<i>NO₂</i>	– óxido de azoto
<i>NO₃⁻</i>	– Nitrato
<i>N-Total</i>	– Azoto Total
<i>OAF</i>	– Organismos Acumuladores de Fósforo
<i>OD</i>	– Oxigênio Dissolvido
<i>PCA</i>	– Análise de Componentes Principais
<i>PLS</i>	– Método dos mínimos quadrados parciais
<i>P-Total</i>	– Fósforo Total
<i>RBN</i>	– Remoção Biológica de Nutrientes
<i>RDS</i>	– Reactor Descontínuo Sequencial
<i>SS</i>	– Sólidos em Suspensão
<i>SST</i>	– Sólidos Suspensos Totais
<i>SSV</i>	– Sólidos Suspensos Voláteis
<i>VIP</i>	– Variável de Maior Importância
<i>VSZ</i>	– Velocidade de sedimentação zonal

1. INTRODUÇÃO

1.1. RELEVÂNCIA DO ESTUDO

A industrialização e o surgimento de novas tecnologias e produtos promoveram ao longo dos últimos anos não só o progresso como também vários problemas ambientais. No panorama industrial a indústria petrolífera é aquela que apresenta maior impacto ambiental, devido ao volume, à composição e recalcitrância dos seus constituintes (Lima *et al.*, 2005). Assim, a preocupação ambiental aliada à necessidade do desenvolvimento sustentável conduziu ao surgimento de legislação que se torna cada vez mais austera, limitando com maior rigor os níveis de descarga dos contaminantes. É evidente a necessidade do desenvolvimento de tecnologias que propiciem a remoção simultânea de compostos orgânicos e de nutrientes.

Entre os principais contaminantes da indústria petroquímica destacam-se os compostos aromáticos e amoniacais. Devido às características recalcitrantes, os compostos aromáticos são acumulados nos corpos receptores causando a diminuição do oxigénio dissolvido. A problemática das descargas relaciona-se com o facto de que muitos desses poluentes se encontram dissolvidos no efluente não podendo ser removidos por processos físicos convencionais. O azoto e o fósforo, quando lançados nos cursos de água, juntamente com a matéria orgânica, provocam, para além do fenómeno de eutrofização, a toxicidade nos peixes e ainda a possibilidade de provocar doenças carcinogénicas.

Para além da indústria petrolífera pode ainda destacar-se as agro-indústrias que fundamentalmente conservam ou transformam matérias-primas. Entre estas indústrias destaca-se a indústria alimentar, cujos principais produtos industrializados são: frutas, legumes e hortaliças, carnes, leite e pescado. Os projectos agro-industriais apresentam grande relevância para o desenvolvimento económico e social de cada país. Existem agro-indústrias em diferentes níveis tecnológicos, desde os mais artesanais e tradicionais até aos mais sofisticados. Em cada situação ocorre uma intervenção ambiental específica, dependendo da sua localização e dos recursos naturais disponíveis e necessários para a implementação do processo produtivo. Em relação à actividade agro-industrial, os principais impactos ambientais estão relacionados com o elevado consumo de água (processamento, limpeza, segurança, etc.), contaminação de efluentes, poluentes atmosféricos e resíduos sólidos.

Os efluentes gerados nas operações de lavagem, enxaguamento, transporte interno das matérias-primas e limpeza de equipamentos, estão intimamente ligados à contaminação das águas, quando estas indústrias não adoptam o tratamento adequado dos seus efluentes. Estes efluentes possuem constituintes tais como: substâncias orgânicas (gorduras e proteínas); nutrientes (azoto e fósforo); substâncias inorgânicas e também compostos aromáticos.

Para além dos contaminantes referidos anteriormente, destaca-se ainda um interferente no tratamento de efluente das indústrias **petrolífera e agro-alimentar – o NaCl (sal)**. Nas refinarias quando se pretende a obtenção de derivados com elevado interesse comercial, originam-se efluentes com elevada salinidade que interferem posteriormente no tratamento. No processamento de determinados alimentos, fundamentalmente de peixe, produzem-se também efluentes com elevada concentração de sal. Assim, é extremamente importante o estudo dos efeitos inerentes à salinidade, nomeadamente no que toca ao tratamento biológico de efluentes.

No contexto do tratamento de efluentes industriais, surge cada vez mais a necessidade da realização desse tratamento através de processos biológicos. A utilização de microrganismos na degradação dos poluentes encontra-se cada vez mais aplicada em estações de tratamento de efluentes domésticos e efluentes industriais.

A remoção biológica de azoto é considerada a forma mais económica de controlar a quantidade deste nutriente em efluentes. O processo envolve uma etapa de nitrificação e uma etapa de desnitrificação. Este tratamento pode ser conduzido em processos biológicos convencionais ou adaptados.

No processo, a etapa de nitrificação é geralmente reconhecida como a mais vulnerável, dependendo de muitos factores frequentemente conectados pela natureza sequencial das suas reacções. Por este motivo, é difícil a monitorização e o ajuste do processo de nitrificação numa Estação de Tratamento Águas Residuais (*ETAR*). As particularidades deste processo motivaram o desenvolvimento deste trabalho.

Após o surgimento de processos biológicos de tratamento de águas residuais com elevada capacidade de tratamento, sente-se também a necessidade do acompanhamento do processo ao nível de determinados parâmetros, surgindo assim a Legislação Ambiental com valores-limite de avaliação da qualidade dos efluentes

tratados. Em Portugal, de acordo com o Decreto-Lei nº 236/98, de 1 de Agosto, qualquer descarga de efluentes está sujeita a licenciamento, o qual será concedido mediante o cumprimento de certas condições.

Para além dos parâmetros operacionais, o conhecimento profundo do estado de funcionamento de uma *ETAR* é essencial à sua gestão e pode ser realizado através da observação da microbiologia do licor misto (microbiologia do processo). O controlo microscópico do licor misto é uma ferramenta útil e rápida para conhecer o estado de um reactor biológico e constitui um elemento base de operação, não só porque permite diagnosticar as patologias habituais do processo, mas também porque permite prever atempadamente o seu aparecimento.

A análise de imagem é, neste momento, um complemento bem estabelecido das técnicas de microscopia óptica uma vez que permite uma classificação e quantificação não subjectiva e automática de microrganismos. Com o aumento das capacidades dos computadores, a análise de imagem tornou-se uma rotina em várias aplicações de tecnologia celular. As aplicações mais comuns vão desde a enumeração de bactérias em alimentos sólidos, monitorização em linha de fermentações, análise de texturas de colónias, determinação da biomassa, etc (Amaral, 1998).

1.2. OBJECTIVOS

Devido à perturbação do tratamento de efluentes industriais com sal, pretendeu-se estudar o efeito de adições crescentes de NaCl (0,5 % a 6,0 %) na remoção de azoto amoniacal, de *CQO* (Carência Química de Oxigénio) utilizando um *RDS* (Reactor Descontínuo Sequencial). Efectuou-se o acompanhamento das concentrações de nitrato de forma a estudar o processo de nitrificação e o acompanhamento de fosfato. Para complementar este estudo foram também observados os *SSV* (Sólidos Suspensos Voláteis) de modo a averiguar o crescimento da biomassa, *IVL* (Índice Volumétrico de Lamas) e Turbidez para a análise de sedimentabilidade das lamas. Dados como o *pH*, *OD* (Oxigénio Dissolvido) e potencial de oxidação-redução foram obtidos em linha.

A monitorização do reactor envolveu também a utilização de ferramentas de análise e processamento de imagem de forma a caracterizar a biocenose existente no interior do reactor durante o período de estudo.

1.3. EFLUENTES SALINOS

Este estudo é baseado na elevada salinidade dos efluentes gerados nas **refinarias** e no **processamento de peixe**.

Elevadas concentrações de sal podem inibir as reacções no processo de degradação orgânica ou causar stress osmótico, induzindo a diminuição significativa da eficiência de tratamento biológico ou da cinética de biodegradação. Para além disso, o elevado índice de sal induz também a lise celular causando um aumento dos sólidos no efluente final. As populações requeridas de protozoários e de organismos filamentosos para promover a floculação apropriada são também reduzidas significativamente (Dan, 2001). As questões associadas à dificuldade do tratamento de efluentes salinos serão discutidas ainda neste capítulo. Contudo, entendemos relevante o estudo de um sistema de tratamento de efluentes a elevadas concentrações salinas de forma a verificar qual a sua capacidade limite de tratamento.

1.3.1. REFINARIAS

O petróleo bruto é uma complexa mistura de hidrocarbonetos, que apresenta contaminações variadas de enxofre, azoto, oxigénio e metais como se pode observar na Figura 1. A composição dessa mistura varia significativamente em função do reservatório de origem. No seu estado bruto, o petróleo apresenta reduzidas aplicações, servindo somente como óleo combustível.

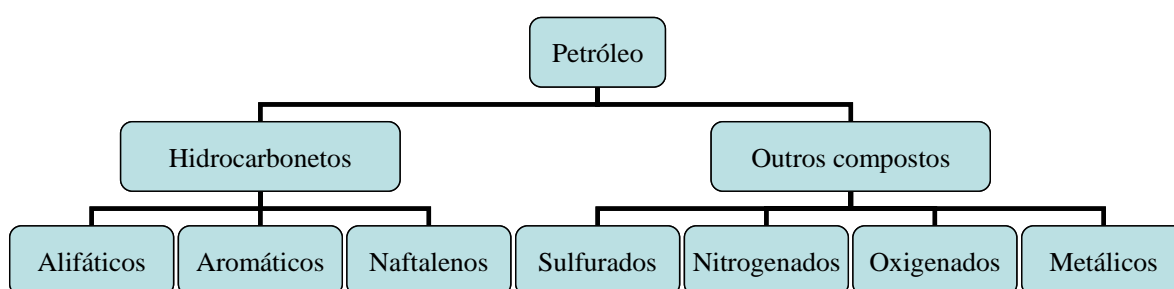


Figura 1. Composição média do petróleo.

Para que o potencial energético do petróleo seja aproveitado ao máximo, deve ser submetido a uma série de processos, a fim de se desdobrar nos seus derivados (Tabela 1).

Do ponto de vista ambiental, as refinarias geram elevados índices de poluição, uma vez que consomem grandes quantidades de água e de energia, produzem grandes quantidades de efluentes líquidos, libertam gases nocivos para a atmosfera e produzem resíduos sólidos de difícil tratamento e disposição.

Tabela 1. Produtos obtidos nas refinarias de petróleo (Dickneider, 2002).

Produto da Refinaria	Hidrocarbonetos	Porcentagem
Gasolina	$C_5 - C_{10}$	27
Querosene	$C_{11} - C_{18}$	15
Diesel	$C_{14} - C_{18}$	11
Gás Óleo Pesado	$C_{12} - C_{25}$	10
Óleo Lubrificante	$C_{20} - C_{40}$	20
Resíduo	$> C_{40}$	17

A refinação de petróleo consiste numa série de benefícios pelos quais passa o óleo, para a obtenção desses derivados, estes sim, produtos de grande interesse comercial. Esses benefícios englobam etapas físicas e químicas de separação, que originam as grandes fracções de destilação. Estas fracções são processadas através de uma outra série de etapas de separação e conversão que fornecem os derivados finais do petróleo, gerando efluentes.

Na Figura 2 encontra-se um esquema simplificado mas ao mesmo tempo representativo das etapas pelas quais passa o petróleo. Para além destes produtos obtidos por destilação, é possível obter por *reações de processamento* outro tipo de produtos com maior valor comercial. Estas reacções são projectadas para quebrar moléculas de maiores dimensões em moléculas menores, combinar moléculas pequenas para formar moléculas maiores, e rearranjar a estrutura das moléculas através de reacções de isomerização. As reacções de craqueamento (ou de quebra) baseiam-se em processos catalíticos que consistem, basicamente, numa reacção de pirólise controlada, na qual os hidrocarbonetos de cadeia longa são transformados em hidrocarbonetos menores, na faixa da gasolina, através da clivagem de ligações carbono-carbono na presença de um catalisador (Dickneider, 2002).

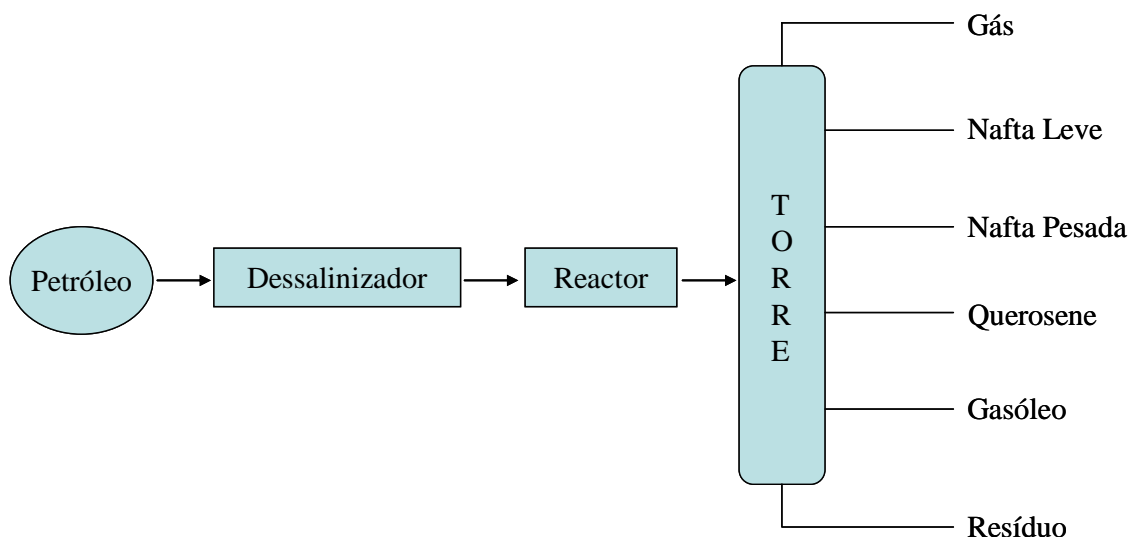


Figura 2. Processamento do petróleo.

Antes da separação em fracções na refinaria, o petróleo bruto carece de tratamento para a remoção de sais corrosivos. É nesta etapa de dessalinização que se produz a maior concentração de efluentes salinos. O processo de dessalinização também remove alguns metais e os sólidos em suspensão que podem provocar a:

- Deterioração das unidades de destilação ou redução da sua eficiência;
- Corrosão dos equipamentos;
- Depósito nas paredes dos permutadores de calor, causando entupimentos e redução da eficiência;
- Deterioração dos catalisadores que serão usados nas etapas posteriores de processamento.

A dessalinização compreende a mistura do petróleo cru aquecido com cerca de 3,0 % – 10 % do seu volume em água, de modo a dissolver os sais indesejáveis (Mariano, 2001). A água é separada do petróleo através da adição de desemulsificadores que ajudam na quebra da estabilidade da emulsão e/ou, mais habitualmente, pela aplicação de um potencial eléctrico. A água que é usada na dessalinização é frequentemente a água não tratada ou apenas parcialmente tratada proveniente de outras etapas da refinação. Na Tabela 2 apresentam-se alguns dos constituintes existentes nos efluentes e nos resíduos sólidos gerados no processo de dessalinização do petróleo.

Tabela 2. Saídas de materiais no processo de dessalinização em refinação (Mariano, 2001).

Etapa	Efluente do processo	Resíduos sólidos gerados
Dessalinização	Óleo	Óleo cru/lama da dessalinização (ferrugem, areia, água, cera e óleo emulsionados, metais, argila)
	H ₂ S	
	Fenol	
	Elevados níveis de sólidos suspensos	
	Sólidos dissolvidos	
	Elevada <i>CBO</i>	
	Elevada Temperatura	

O processo de dessalinização gera uma lama oleosa e uma corrente de **água salgada residual**, com alta *CQO*, azoto amoniacal, fenóis e sólidos em suspensão que normalmente é adicionada a outras correntes aquosas residuais provenientes de outras fases do processamento, sendo posteriormente enviadas para as estações de tratamento de efluentes das refinarias.

1.3.2. PROCESSAMENTO DE PEIXE

O processamento de peixe com salmoura produz normalmente elevada matéria orgânica, óleos e gorduras e elevados níveis de sal. Esta característica induz dificuldades em processos biológicos de tratamento (Méndez *et al.*, 1992). Os principais impactos ambientais das indústrias de processamento de peixe relacionam-se fundamentalmente com o elevado consumo de água, a contaminação de efluentes, a produção de poluentes atmosféricos e ainda a produção de resíduos sólidos. Para evidenciar as fases do processo onde há produção de efluentes salinos, apresenta-se na Figura 3 um dos possíveis esquemas de processamento de sardinha em conserva.

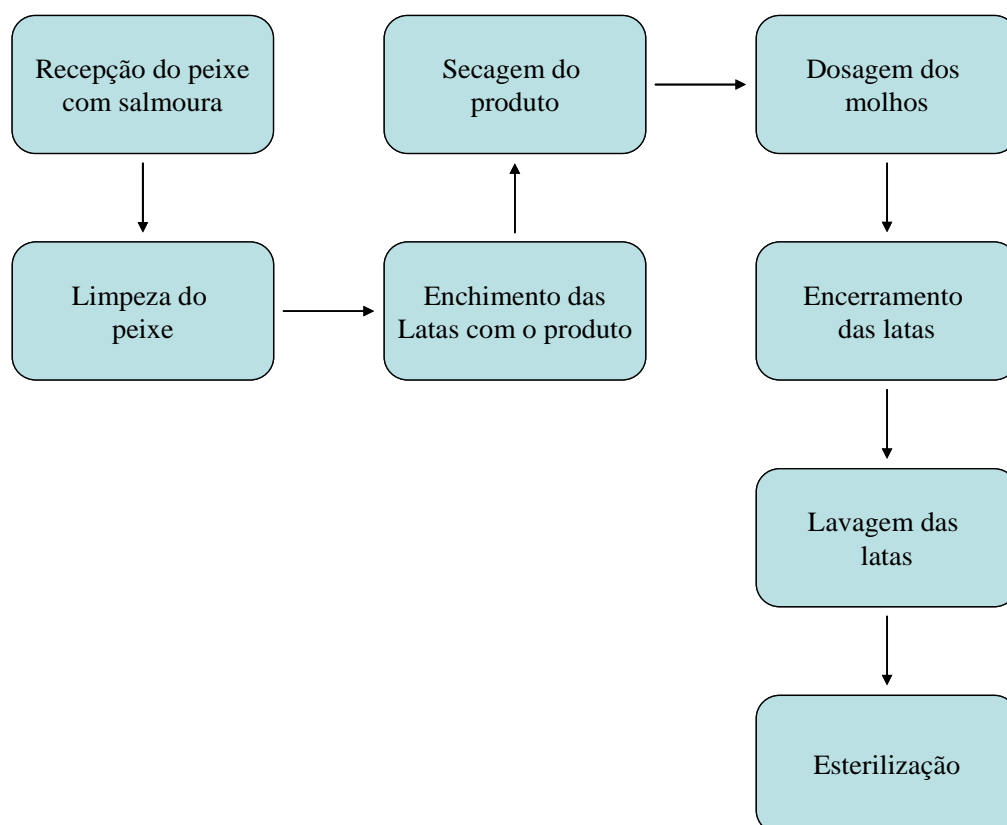


Figura 3. Exemplo do processamento de sardinha em lata.

O caudal de efluentes gerados nas operações de lavagem, transporte interno das matérias-primas, limpeza do ambiente de trabalho e dos respectivos equipamentos está intimamente ligado à contaminação das águas, quando estas indústrias não adoptam o tratamento adequado dos seus efluentes. As altas concentrações de compostos azotados, originados na decomposição do material proteico, são características deste tipo de indústrias, devendo ser dada particular atenção não só à remoção de matéria carbonatada mas também à matéria orgânica azotada (Russo, 1998). Como se pode observar pela Tabela 3, as indústrias de processamento de peixe exibem elevadas concentrações de matéria orgânica, azoto e fósforo, devendo por isso realizar-se uma etapa de remoção biológica de nutrientes (*RBN*). Existem vários tipos de processo para a remoção biológica de nutrientes que serão abordados ainda neste primeiro capítulo.

Tabela 3. Parâmetros observados nos efluentes de processamento de pescado (Intrasungkha *et al.*, 1999).

Parâmetro	Unidade	Processamento	
		Salmão	Pesc. Selvagem
<i>pH</i>		8	6,7
Condutividade	mS/cm	44	1,5
<i>SS</i>	mg/L	435	75
<i>CBO</i>	mg/L	912	420
<i>CQO</i>	mg/L	1633	1429
NH ₃ -N	mg/L	1,4	10,2
N-Total	mg/L	49,7	174,5
PO ₄ -P	mg/L	19,6	34,4
P-Total	mg/L	27,3	61,1

A produção de águas residuais em unidades de processamento de peixes é variável, dependendo da época de produção e/ou captura dos peixes e processos utilizados. O tratamento destes efluentes é complexo, devido à presença de compostos proteicos e de elevada concentração de sal (superior a 30 g/L), principalmente no caso da produção de conservas (Gharsallah *et al.*, 2002).

O consumo de água nestas indústrias varia de 18 m³/ton a 74 m³/ton de peixe processado. Cerca de 90 % da *CQO* existente nas águas residuais é obtida na recepção e lavagem do peixe (Battistoni & Fava, 1994). O efluente salino é gerado fundamentalmente quando se efectua a salmoura e também quando se promove a cozedura do peixe onde os níveis de salinidade se encontram entre 2,0 % a 3,0 % (Dan, 2001).

Como referido anteriormente, a elevada salinidade dos efluentes gerados nas refinarias e nas indústrias de processamento de peixe, é uma das causas da dificuldade de tratamento por sistemas convencionais. Seguidamente, referem-se algumas das dificuldades sistemáticas apresentadas pelos processos, quando são submetidos ao tratamento biológico com efluentes de elevada salinidade.

1.4. EFEITO DA SALINIDADE

O tratamento dos efluentes salinos despoletou na comunidade científica com um estudo realizado por Kincannon & Gaudy (1966). Estes investigadores estudaram a microbiologia de processos biológicos e concluíram que a redução de concentrações salinas causa efeitos mais graves na comunidade microbiana do que aumentos graduais dessas mesmas concentrações de sal. As bruscas alterações de concentração salina originam a libertação de constituintes celulares aumentando a *CQO* solúvel dos efluentes.

Foram desenvolvidos outros estudos de forma a observar os problemas inerentes ao tratamento biológico de efluentes salinos. Este tratamento pode ser efectuado através da utilização de vários tipos de reactores, entre os quais se destacam o *RDS*, lamas activadas convencionais, reactores de leito fixo, reactor de biodiscos e ainda os reactores anaeróbios. O desempenho de cada tipo de reactor varia de acordo com a estratégia adoptada na optimização dos processos.

Segundo experiências realizadas por Kargi & Uygur (1997), existem quatro dificuldades principais no tratamento biológico de efluentes salinos, a saber:

- **Extensão limitada de adaptação:** As culturas convencionais existentes nos sistemas de lamas activadas não podem ser usadas para tratar águas residuais salinas com concentrações de sal superiores a 3,0 % ou 5,0 %. A salinidade altera as funções metabólicas e causa plasmólise e/ou perda da actividade microbiana. Consequentemente, as eficiências de remoção de *CQO* são mais baixas (Gharsallah *et al.*, 2002).
- **Sensibilidade para mudanças de força iónica:** Variações na concentração de sal entre 0,5 % e 2,0 % causam normalmente dificuldades no desempenho do sistema. Mesmo com culturas que sofreram aclimação, o desempenho adequado do tratamento requer uma composição iónica constante. Mudanças bruscas nas concentrações de sal provocam efeitos mais adversos do que mudanças graduais. Torna-se essencial a equalização numa determinada concentração de sal antes do tratamento do efluente salino.
- **Cinética de degradação reduzida:** A taxa de degradação biológica de compostos orgânicos diminui com o aumento das concentrações salinas. Assim,

os efluentes salinos deveriam ser tratados com razões F/M (Alimento/Microrganismo) baixas.

- **Elevada concentração de sólidos suspensos:** A existência de sal nos efluentes reduz as populações de protozoários e organismos formadores de flocos, resultando em baixas eficiências de sedimentação.

Kargi & Dinçer (1996) estudaram o desempenho de um processo de tratamento biológico usando um efluente salino. Utilizaram uma cultura dominante de *Zooglearamigera* (bactérias formadoras de flocos) devido aos efeitos adversos dos efluentes salinos na microbiologia dos processos de tratamento biológicos. Apesar da utilização destes microrganismos, observaram que concentrações de sal a 2,0 % causam uma redução na eficiência de remoção de CQO do processo. A mesma conclusão surgiu em publicações posteriores (1997, 1998, 1999a, 1999b).

Abu-ghararah *et al.* (1993) e Intrasingkha *et al.* (1999) estudaram a remoção biológica de nutrientes (RBN). Os primeiros verificaram que para 0,4 % de sal é possível obter elevadas eficiências de remoção de azoto enquanto que a remoção de fósforo é dificultada, havendo por isso uma diminuição na eficiência do processo, enquanto que os segundos observaram elevadas eficiências de remoção para concentrações de sal inferiores (0,03 % a 0,2 %).

A nitrificação em efluentes salinos foi estudada em detalhe por Panswad & Anna (1999). Estes investigadores verificaram que esta etapa presente na RBN é extremamente sensível à salinidade, obtendo-se 55 % de inibição do processo para 3,0 % de sal. Contudo, a actividade microbiana é facilmente recuperada em poucos dias.

Campos *et al.* (2002) analisaram igualmente a diminuição da actividade microbiana no processo de nitrificação de efluentes salinos, para concentrações até 0,5 M. A partir desta concentração, o sistema biológico começou a acumular azoto amoniacal e nitrito. Verificou-se também que o aumento da salinidade não afectou significativamente as propriedades da biomassa microbiana devido aos valores obtidos de Índice Volumétrico de Lamas (IVL) e a Velocidade de Sedimentação Zonal (VSZ).

Outro método de tratamento de efluentes passa pela utilização de reactores de leito fixo. Gharsallah *et al.* (2002) concluíram que após um período de adaptação por parte dos microrganismos, a CQO e o COT (Carbono Orgânico Total) diminuíram,

resultando em elevadas eficiências de remoção. A partir deste momento, a aclimação dos microrganismos torna-se uma operação fundamental no tratamento de efluentes salinos.

A utilização do *RDS* para o estudo da remoção biológica de nutrientes tem vindo a ganhar grande consideração na comunidade científica devido à elevada eficiência na remoção de matéria orgânica e nutrientes. Devido à facilidade de operação, a sua aplicação no tratamento de efluentes salinos tem ganho grande ênfase.

O *RDS* estudado por Uygur & Kargi (2004) foi concebido para a verificar os efeitos inibitórios na *RBN* através da utilização de um efluente salino (0,0 % a 6,0 %). O processo de remoção biológica consistiu na utilização de fases aeróbias, anóxicas e anaeróbias por cada ciclo. Com o aumento da concentração salina do efluente foram obtidas baixas eficiências de remoção de *CQO*, azoto amoniacal e fósforo. Para além do acompanhamento do processo, foi também observada a concentração de biomassa e a sedimentação das lamas no final de cada ciclo de operação. Concluiu-se que o aumento da concentração de sal afecta também a concentração de biomassa, uma vez que esta diminuiu durante o tratamento. Verificou-se o aumento do *IVL* com o aumento da concentração de sal indicando o aumento dos sólidos suspensos, ou seja, possível aumento da concentração de sólidos com menor diâmetro (aumento da desfloculação).

A dificuldade do tratamento de efluentes salinos não é actual. Todos os exemplos dados anteriormente referem a diminuição das eficiências de remoção dos principais poluentes. Surgiu por este facto, a solução que permitiu melhorar o desempenho dos processos biológicos apresentada por vários investigadores – a utilização de bactérias **halofílicas** ou **halotolerantes** (bactérias que sobrevivem a elevadas concentrações de sal).

Uma nova pesquisa realizada por Uygur (2005), permitiu comparar dois tipos de consórcios microbianos distintos. Num *RDS*, semelhante ao da pesquisa anterior, utilizou um organismo halotolerante (*Halobacter halobium*) e no outro utilizou esse mesmo organismo adicionado ao consórcio microbiano convencional existente nas lamas activadas. Foram obtidas remoções de nutrientes e de *CQO* elevadas para o reactor onde se adicionou o organismo halotolerante aos consórcios microbianos

convencionais. Mais uma vez se aferiu a obtenção de remoções elevadas de matéria orgânica e nutrientes para concentrações de sal inferiores a 1,0 %.

Woolard & Irvine (1995) realizaram o tratamento de efluentes hipersalinos (15 %) usando microrganismos com capacidade de sobrevivência a ambientes com elevada salinidade. Os microrganismos isolados têm também capacidade de degradar o fenol. Neste estudo verificou-se uma elevada capacidade de remoção do fenol existente nos efluentes por parte da comunidade microbiana.

A aplicação de biodiscos para o tratamento de efluentes apresenta características atraentes para o tratamento de efluentes, sendo por isso utilizado por Kargi & Uygur (1997). No entanto, foi empregue uma cultura pura de *Halobacter halobium* (bactérias halotolerantes) para que a eficiência de remoção fosse superior à obtida com culturas convencionais. Com os dados cinéticos alcançados foi elaborado um modelo matemático que demonstrou que para a obtenção de uma eficiência de remoção de *CQO* superior a 90 %, a concentração de sal não poderia ser superior a 1,0 %.

Em tratamento de efluentes utilizando reactores biológicos, o *RDS* aparece como alternativa ao tratamento de efluentes das refinarias e das indústrias de processamento de peixe. As suas características inerentes apresentam-se como solução para o tratamento de efluentes da indústria alimentar, considerando todas as alterações possíveis de caudal e de efluente a tratar (Castro, 2003).

1.5. PROCESSOS DE TRATAMENTO BIOLÓGICOS AERÓBIOS

Anteriormente, atribuiu-se uma elevada importância aos processos de tratamento biológico de efluentes, que de certa forma podem ver diminuída a sua capacidade de tratamento perante o surgimento de efluentes com elevada salinidade. Assim, esta secção pretende dar a conhecer os principais processos de tratamento biológico de efluentes (Figura 4), para posterior descrição do *RDS* utilizado neste trabalho.

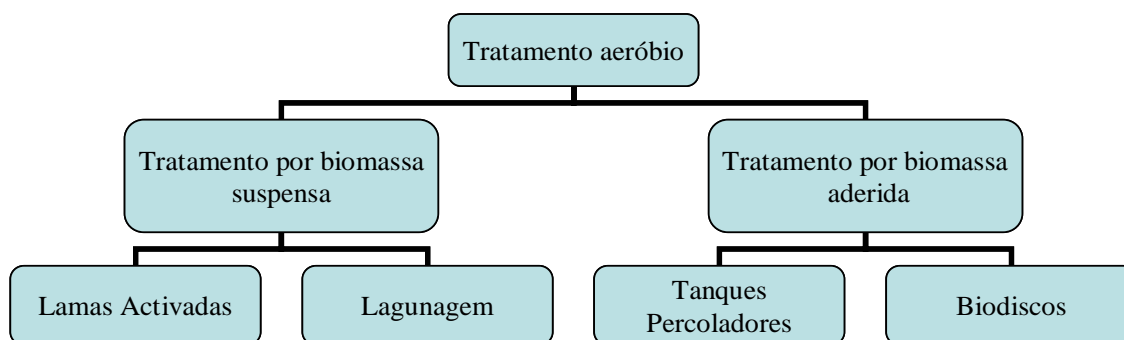


Figura 4. Tipos de tratamento biológico aeróbio.

Para além do tratamento biológico aeróbio, que consiste na utilização de microrganismos actuates na degradação de nutrientes e de matéria orgânica biodegradável na presença de oxigénio, é possível também, a utilização de microrganismos anaeróbios, onde a conformação dos reactores é claramente diferente dos anteriores.

1.5.1. LAMAS ACTIVADAS

No final do século XIX e início do século XX as pesquisas desenvolviam-se apenas em processos de filtração, estando os processos biológicos limitados à utilização de leitos percoladores e tanques sépticos. Os tanques sépticos perderam parte da sua popularidade devido a uma restrição de 1896, mas foram logo substituídos por novos processos anaeróbios. Os processos físico-químicos eram sem dúvida os mais populares na época, incluindo a sedimentação, o tratamento químico, e a própria diluição. Contudo, nenhum desses processos oferecia um efluente de elevada qualidade. Neste contexto, foi recebida a comunicação técnica do surgimento de um novo processo designado "lamas activadas" capaz de produzir um efluente claro, límpido, sem odor e de alta qualidade (Metcalf & Eddy, 1991).

O sistema de lamas activadas é um processo contínuo de tratamento biológico de águas residuais que inclui a oxidação da matéria orgânica e a nitrificação. Consiste na formação de flocos microbianos no efluente pelo crescimento de bactérias zoogleais ou outros organismos na presença de oxigénio dissolvido (*OD*). O efluente e as lamas activadas são misturados, agitados e arejados (em tanques de arejamento), para logo após se separarem as lamas activadas do efluente tratado (por sedimentação em

decantadores por gravidade). Parte das lamas activadas são purgadas do sistema e a outra parte volta para o sistema de tratamento (Figura 5).

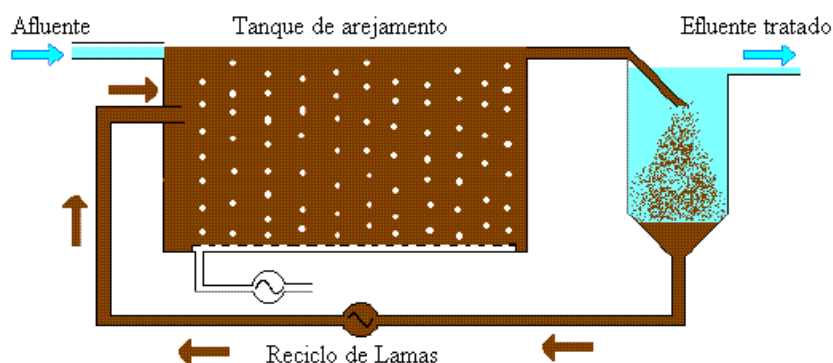


Figura 5. Tratamento de efluentes por lamas activadas.

Os sistemas de tratamento por lamas activadas removem do efluente compostos orgânicos dissolvidos e matéria coloidal bem como sólidos suspensos não sedimentáveis e outros constituintes que são captados pelos flocos microbianos. Os nutrientes (fósforo e azoto) podem ser parcialmente removidos ou volatilizados durante o processo de tratamento biológico. Uma das desvantagens deste processo prende-se com a dificuldade na remoção de cor de alguns efluentes industriais (Ganczarczyk, 1983).

Este sistema de tratamento biológico pode ser usado para efluentes com baixo ou elevado caudal, para efluentes domésticos ou industriais, ou ainda para efluentes mistos (domésticos e industriais).

Em sistemas de lamas activadas, os compostos orgânicos voláteis podem ser volatilizados para a atmosfera devido ao arejamento tumultuoso existente no tanque. Dependendo do tipo de composto orgânico volátil, pode ocorrer a biodegradação e também *stripping*. Recentemente, o *stripping* de compostos orgânicos voláteis tem recebido redobrada atenção devido aos limites de emissão permitidos por Lei (Eckenfelder, 2000).

1.5.2. REACTOR DESCONTÍNUO SEQUENCIAL (*RDS*)

Um Reactor Descontínuo Sequencial (*RDS*) é um sistema de tratamento com lamas activadas em que as diferentes fases de tratamento ocorrem dentro do mesmo tanque, como se pode observar pela Figura 6. O termo, é originado pela sequência de passos pelos quais o reactor passa desde que recebe o efluente, o trata e o descarrega.

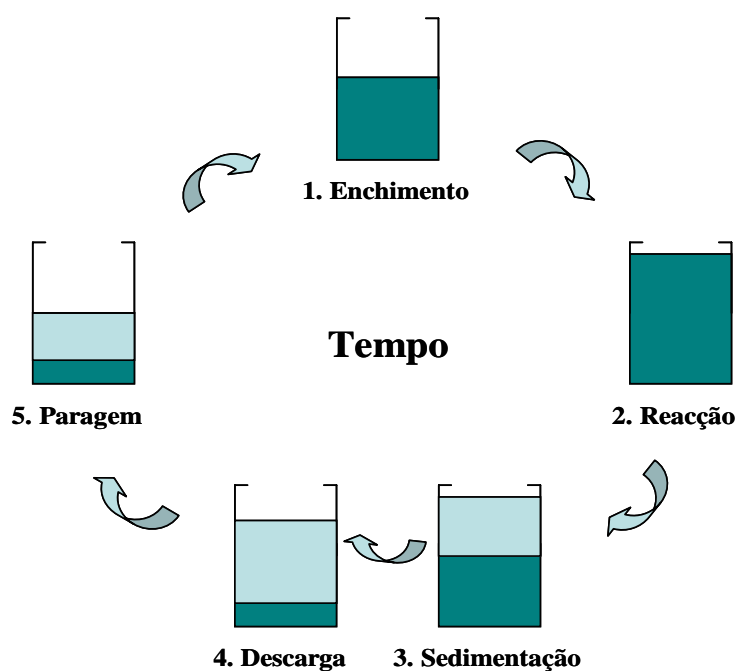


Figura 6. Esquema de funcionamento de um *RDS*.

O *RDS* não remove apenas matéria orgânica e sólidos suspensos, como os sistemas de lamas activadas convencionais, pode também ser usado na remoção biológica de nutrientes – azoto e fósforo.

Um ciclo de operação de um *RDS* implica a passagem por todas as fases indicadas na Figura 6: **enchimento**, **reacção**, **sedimentação**, **descarga** e **paragem** (Moreira, 2001).

Enchimento: Durante esta fase o efluente é adicionado à biomassa que se encontra presente no reactor proveniente do ciclo anterior. O volume de líquido do reactor aumenta de um volume inicial (V_0) até um valor máximo. O volume inicial, contendo os microrganismos, pode variar entre 25 % e 70 % do volume total do reactor e é determinado pela carga a ser tratada, pelo tempo de residência desejado e pelas

características de sedimentação da biomassa microbiana (Coelho, 1998). O período de enchimento termina quando se atinge o nível máximo, dado em geral pelo volume útil do reactor. Pode ser efectuado arejamento durante esta etapa, permitindo que a biomassa seja misturada, à medida que o efluente entra. Aos microrganismos que estão em contacto com o substrato é fornecida uma grande quantidade de oxigénio, para facilitar a sua degradação. A nitrificação e desnitrificação ocorrem no início desta fase. Normalmente este é o tipo de enchimento usado nos trabalhos experimentais uma vez que os microrganismos já se encontram aclimatados às condições operacionais.

Reacção: As reacções que se iniciaram na etapa de enchimento do reactor são conduzidas a volume constante já que não ocorre remoção de sólidos. O final desta etapa é dado pelo tempo necessário para que as transformações atinjam os níveis de qualidade desejados, de acordo com as estratégias operacionais que são pré-estabelecidas. Depois de o substrato ser consumido, entra-se numa fase de escassez de alimento, em que alguns microrganismos morrem, ajudando na diminuição do volume de lamas sedimentadas. O tempo desta etapa pode variar de zero, se todas as transformações se completarem na etapa de enchimento, até 50 % do tempo total de ciclo. Normalmente esta fase tem uma durabilidade de 35 % do tempo total de ciclo (Metcalf & Eddy, 1991).

Sedimentação: Durante esta fase, pára o arejamento, dando lugar à separação dos sólidos, ficando sobre as lamas sedimentadas, o efluente limpo e tratado. Durante este período, nenhum líquido deve entrar ou sair do tanque, de modo a evitar turbulência no sobrenadante. O tempo de sedimentação típico varia entre 0,5 e 1,5 horas (Coelho, 1998). O processo de sedimentação num *RDS* é muito mais eficiente do que num sistema contínuo uma vez que o sistema se encontra completamente parado (Metcalf & Eddy, 1991).

Descarga: Este período é caracterizado pela descarga do efluente tratado. Esta remoção deve ser feita, sem perturbar as lamas sedimentadas. Esta etapa não deve ser excessivamente longa devido à possibilidade de lavagem (*washout*) de microrganismos do reactor, alterando assim a produtividade do sistema.

Paragem: Durante este período, deverá ser feita a purga de lamas. Pode ser ainda adicionada biomassa (no caso desta se perder durante a etapa de descarga).

A tecnologia apresentada pelo *RDS* oferece algumas vantagens sobre outros sistemas de lamas activadas. A utilização de um *RDS* permite: controlar o crescimento filamentoso e os problemas de sedimentação; remover nutrientes sem químicos uma vez que se verifica um bom contacto do oxigénio com os microrganismos e substrato; menores custos de manutenção relativamente aos métodos convencionais; menor área para a instalação e menos equipamento de processo, uma vez que apenas se utiliza um tanque para todas as fases de operação; elevada flexibilidade e controlo dos ciclos de operação, mediante as necessidades e ainda qualidade elevada do efluente final e consistência.

As desvantagens deste sistema são similares aos problemas de qualidade das lamas associados aos tratamentos convencionais, nomeadamente possíveis problemas de sedimentação, desenvolvimento de espuma, etc. Os problemas específicos incluem as dificuldades na sedimentação e necessidade de equalização, quando há um grande volume de efluente produzido e carência de oxigenação do meio (Moreira, 1995).

De acordo com as características do *RDS*, optou-se por usar este reactor para o estudo dos efluentes salinos de forma a maximizar a remoção conjunta de *CQO* e de azoto amoniacal.

Como se tem referido ao longo deste capítulo, os processos biológicos de tratamento de efluentes envolvem a utilização de microrganismos. Seguidamente, são descritas as comunidades microbianas envolvidas nestes processos bem como as reacções de síntese de remoção do substrato e da oxidação da matéria orgânica.

1.6. MICROBIOLOGIA DO PROCESSO

No processo de degradação de efluentes, parte da matéria orgânica é oxidada a produtos finais na produção de energia para os processos vitais; a outra parte é convertida em novas células, que na ausência de matéria orgânica passam a metabolizar as suas reservas celulares (respiração endógena) para obter energia, transformando essa matéria orgânica em produtos finais como CO_2 e H_2O , como se pode observar pela Figura 7.

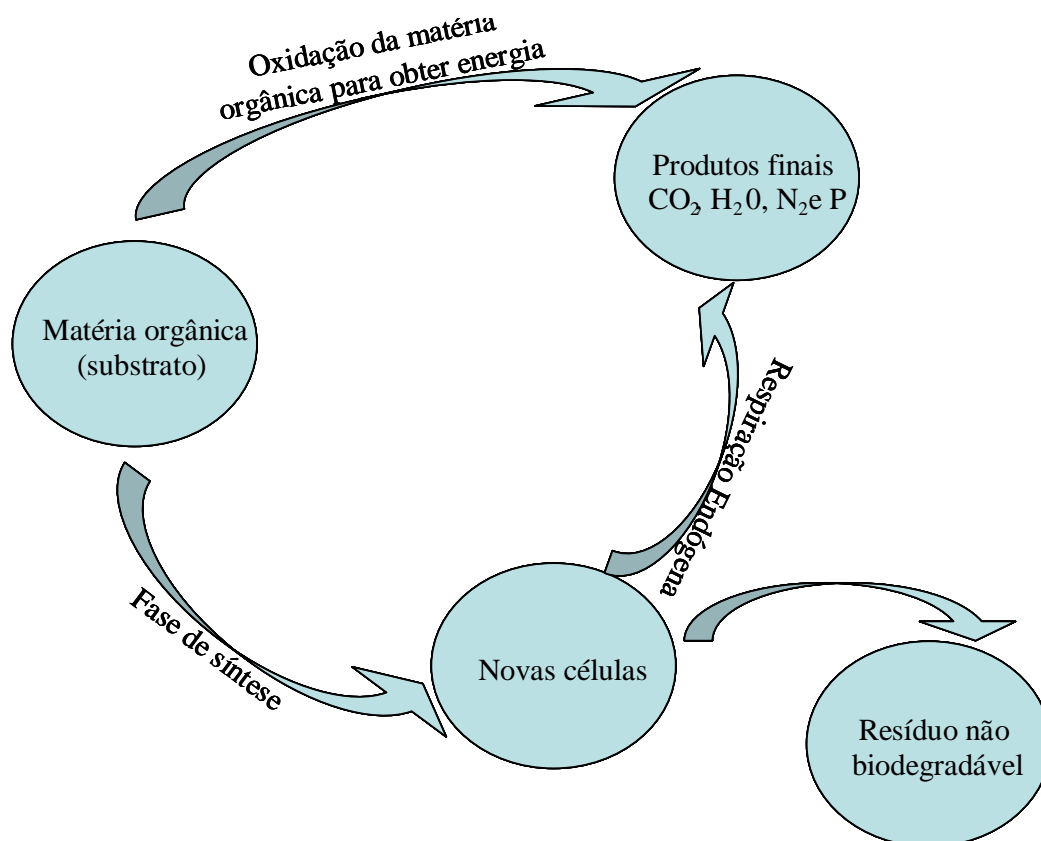


Figura 7. Esquema do mecanismo de decomposição aeróbia.

As reacções aeróbias ocorrem em sequência na qual predominam os seguintes mecanismos: síntese (**anabolismo**) e respiração endógena (**catabolismo**).

No início predominam as actividades de síntese, onde a matéria orgânica presente no efluente é utilizada pelos microrganismos para as suas actividades metabólicas de crescimento e obtenção de energia. Essa fase resulta no consumo de oxigénio e no aumento da população de microrganismos.

Quando parte da matéria orgânica originalmente presente se encontra removida há a predominância dos mecanismos da segunda fase da oxidação. No início desta fase a população de microrganismos encontra o seu máximo e, devido à baixa disponibilidade de substrato no meio a principal fonte de alimento passa a ser o próprio protoplasma celular, predominando assim os mecanismos de auto-oxidação ou de respiração endógena.

Os principais microrganismos nos processos de tratamento aeróbios necessitam, além de energia e fonte de carbono para a síntese celular, de alguns elementos inorgânicos tais como azoto, fósforo potássio, cálcio, e ainda outros micronutrientes

minerais. A nutrição microbiana pode ser heterotrófica ou autotrófica dependendo da sua fonte de alimento.

Os microrganismos heterotróficos são mais importantes porque utilizam matéria orgânica como fonte de energia e como fonte de carbono para a síntese, estabilizando-a. No grupo de microrganismos heterotróficos, podem destacar-se as bactérias (*Zooglea*, *Aerobacter*, *Pseudomonas*) e os protozoários (*Vorticella*, *Paramecium*, *Colpoda*), *Rotíferos* e *Nematodes*.

Os microrganismos autotróficos oxidam a matéria inorgânica para daí obterem energia, tendo como fonte de carbono o dióxido de carbono. Os microrganismos mais importantes nos processos de lamas activadas são os quimiossintéticos, tais como as bactérias *Nitrosomonas* e as bactérias *Nitrobacter* geralmente presentes nos processos de nitrificação que serão abordados seguidamente.

Para além dos microrganismos convencionais, existem ainda outros microrganismos de alguma relevância para o estudo de efluentes salinos. Vários microrganismos são capazes de crescer em ambientes contendo elevadas concentrações de sal que podem ser divididos em três categorias: **halotolerantes** (crescimento entre 0 e 0,3 M de NaCl), **halofílicos moderados** (crescimento entre 0,2 e 2,0 M de NaCl), e **halofílicos extremos** (crescimento entre 3,0 e 5,0 M de NaCl). Na Tabela 4 pode-se observar a concentração de vários iões existente na água do mar (Edwards, 1990).

Tabela 4. Concentrações (g/L) existentes na água do mar (Edwards, 1990).

<i>Água do Mar</i>	
Na ⁺	10,8
K ⁺	0,4
Mg ²⁺	1,3
Ca ²⁺	0,4
Cl ⁻	19,6
Br ⁻	0,1
Salinidade total	35,2
<i>pH</i>	8,2

Para ambientes com elevada salinidade, os microrganismos halofílicos apresentam concentrações internas de NaCl diferentes das concentrações externas, isto é, como a concentração de NaCl externa aumenta, os mecanismos celulares são

desenvolvidos para prevenir o aumento intracelular de NaCl. Elevadas concentrações internas são tóxicas para as células, consequentemente, as membranas celulares apresentam baixa permeabilidade aos iões Na^+ (Edwards, 1990).

Nas próximas secções descrevem-se os microrganismos envolvidos no tratamento aeróbio de efluentes, de forma a compreender a sua importância e também a necessidade do seu estudo que envolve actualmente a utilização de técnicas de processamento de imagem da microbiologia dos processos.

1.6.1. BACTÉRIAS

As bactérias são microrganismos unicelulares, apresentam-se isoladas ou em cadeias, possuem forma esférica, bastonetes ou espiriladas. Especialmente as bactérias nitrificantes são aptas a sintetizar o seu próprio material celular, a partir de carbono inorgânico, pela utilização de energia obtida da oxidação de minerais (azoto amoniacal para as *Nitrosomonas* e nitritos para as *Nitrobacter*).

Num reactor *RDS*, a maioria da biomassa celular encontra-se organizada em flocos. Desde o início das pesquisas, observou-se que no tratamento de efluentes domésticos prevaleciam bactérias formadoras de flocos designados por *Zoogloea ramigera* (Ganczarczyk, 1983). Os flocos são uma estrutura complexa heterogénea constituída por estruturas agregadas designadas de microflocos contendo organismos metabolicamente activos como não activos. A composição e a actividade alteram com a idade do floco microbiano (Seviour & Blackall, 1999). A base dos flocos é constituída fundamentalmente por bactérias heterotróficas (*Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Citromonas* e *Zoogloea*) (Jenkins *et al.*, 2004).

A sustentação dos flocos é efectuada através de uma matriz polimérica com composição química variável, referida como substância polimérica extracelular (*EPS*). As *EPS* formam uma barreira protectora contra alguns perigos existentes no ambiente exterior celular, como é o caso de mudanças bruscas no *pH* (Liu & Fang, 2003). Sabe-se hoje que as bactérias filamentosas que causam graves problemas na qualidade do efluente final, apesar do seu baixo número, são extremamente importantes na manutenção da estrutura do floco (Seviour & Blackall, 1999). A morfologia dos flocos microbianos é de extrema importância pois permite verificar a capacidade de

sedimentabilidade das lamas nos decantadores, tornando-se necessária a utilização do processamento e análise de imagem.

Na Figura 8 pode-se observar alguns exemplos de bactérias filamentosas com diferentes respostas a colorações de Gram e Neisser.

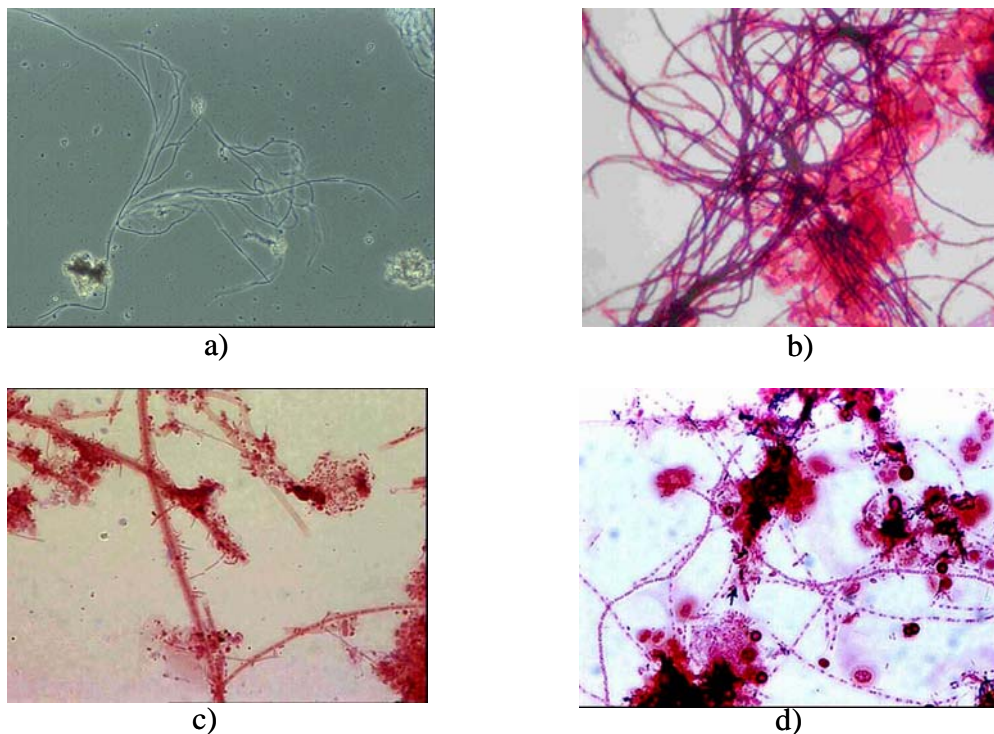


Figura 8. a) *Sphaerotilus natans*; b) *Microthrix parvicella*; c) *Thiothrix sp.*; d) *Nocardia sp.*.

Para se ultrapassarem as situações de crescimento filamentosso exagerado, é necessário identificar correctamente a espécie ou espécies responsáveis por este crescimento. Após a correcta identificação dos microrganismos causadores do problema filamentosso poder-se-á então optar pelas medidas que incidam sobre as causas do fenómeno e não apenas sobre os efeitos (Nicolau, 2002). Contudo, nem sempre é fácil a sua identificação devido às semelhanças entre as várias bactérias filamentosas.

Quando as bactérias filamentosas ocorrem em excesso no sistema de tratamento, não permitem a sedimentação de lamas no decantador secundário, resultando num fenómeno conhecido como *bulking*. Quando ocorrem em pouca quantidade, observa-se também má sedimentação das lamas devido a formação de flocos pequenos, conhecidos como *pin-point*.

O *bulking* é um problema muito habitual nos sistemas de lamas activadas, resultando numa deficiente sedimentação da lama biológica, podendo levar à sua perda com o efluente final e à diminuição da qualidade do efluente final. Podem surgir outros problemas associados ao *bulking* na estação de tratamento de águas residuais (ETAR) como, por exemplo, o aumento da CQO e de sólidos no efluente final, a diminuição da concentração de sólidos na lama espessada e imediata redução da idade das lamas, além da sobrecarga hidráulica na fase de tratamento de sólidos na ETAR.

Podem distinguir-se dois tipos de *bulking*: o *bulking* viscoso ou zooglético e o *bulking* filamentoso, sendo este o mais preocupante nos tratamentos biológicos aeróbios. O *bulking* filamentoso resulta do crescimento excessivo de microrganismos filamentosos. A partir do crescimento aproximadamente de 10 µm de filamentos por ml existe a desagregação flocular, com a consequente diminuição da sedimentação dos sólidos (Abreu, 2004). Ambos os tipos de *bulking* têm consequências na sedimentação e no espessamento. Embora o *bulking* seja reconhecido como um dos problemas mais graves ao nível dos sistemas de tratamento biológico por lamas activadas, não existem soluções universais para controlar o excessivo crescimento destes microrganismos. As acções correctoras dependem do microrganismo em causa. É por isso importante identificar o filamento dominante que provoca o *bulking*, para tentar solucionar o problema, adoptando uma acção correctora específica para combater tal microrganismo.

No tratamento secundário levado a efeito por qualquer sistema de lamas activadas é frequente o desenvolvimento de uma camada superficial de espuma (*foaming*) no reactor biológico e no sedimentador secundário. De forma geral, distinguem-se três tipos de espumas: Espumas originadas pela colocação em funcionamento e/ou pela presença de detergentes. São brancas, pouco densas e dispersáveis, aparecendo tanto no reactor biológico como no sedimentador secundário; Espumas originadas pela desnitrificação, que consistem na subida das lamas para a superfície do sedimentador secundário (*rising sludge*) devido à produção de azoto gasoso; Espumas originadas pelo crescimento excessivo de certos microrganismos filamentosos.

A espuma provoca várias disfunções dentro do sistema de lamas activadas uma vez que reduz a transferência de oxigénio, dificulta a manutenção e produz muitas vezes um efluente de baixa qualidade. Algumas das bactérias formadoras de espuma, entre as

quais *Nocardia asteroides*, *Rhodococcus equi* e *Tsukamurella paurometabolum* são patogénicas.

Com todos os problemas inerentes à proliferação de vários tipos de microrganismos filamentosos, considera-se de extrema importância o estudo através de técnicas de análise de imagem da sua relação com as bactérias formadoras de flocos. Assim, é possível a obtenção de dados concretos de monitorização permitindo aos operadores o controlo de *bulking* e de espumas. No entanto, de forma generalizada, o estudo da aplicação da análise de imagem foi efectuado apenas à morfologia dos agregados microbianos.

1.6.2. PROTOZOÁRIOS

Nas lamas activadas, para além dos “decompositores” (bactérias e fungos) que retiram a energia para o seu desenvolvimento, a partir da matéria orgânica existente em suspensão no afluente, existem ainda os seus consumidores que são todos os organismos que predam as bactérias dispersas e outros organismos. É neste segundo grupo se inserem os protozoários. Os protozoários são seres unicelulares, complexos, podendo ter várias formas e um dos seus aspectos mais importante é o facto de poderem ser usados para monitorizar a operação de processos de tratamento de águas residuais. Na ausência de protozoários, o efluente final é caracterizado por possuir uma *CBO* mais elevada e uma maior turbidez, devido à presença de muitas bactérias dispersas (Madoni, 1994).

A maior parte dos protozoários ciliados presentes nas estações de tratamento alimentam-se de bactérias, embora existam outros que predam ciliados ou flagelados. Estes ciliados bacteriófagos das lamas activadas podem ser divididos em três grupos funcionais com base no seu comportamento (exemplos observados na Figura 9):

- **Nadadores:** nadam na fracção líquida e permanecendo em suspensão no tanque de sedimentação (exemplo: *Paramecium*);
- **Móveis de fundo:** habitam a superfície dos flocos (exemplo: *Aspidisca cicada*);
- **Sésseis:** estão fixos por um pedúnculo aos flocos e precipitam com estes durante a sedimentação (exemplo: *Vorticella convallaria*).

Como o processo de lamas activadas se baseia na formação de agregados bacterianos sobre os quais outros organismos se podem desenvolver, uma população de microrganismos com capacidade de se ligar à lama tem vantagem sobre a população que

nada livremente na fracção líquida e que está sujeita a ser levada para fora do sistema, através do efluente (Martins, 2002).

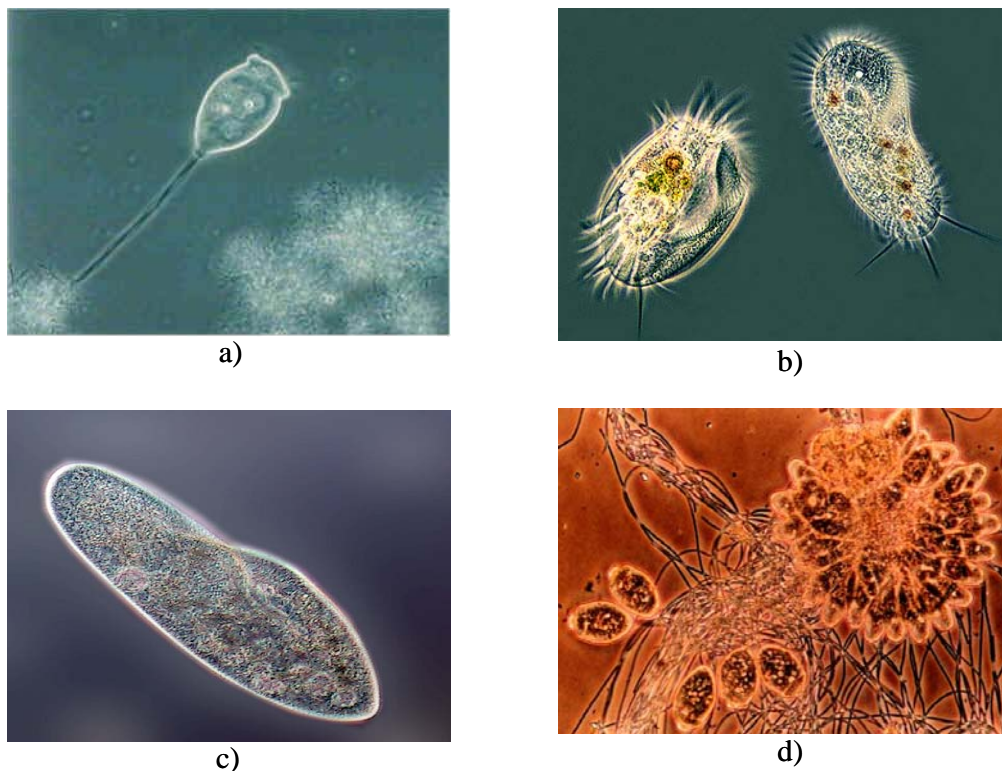


Figura 9. a) *Vorticella convallaria*; b) *Euplotes* e *Stylonchia*; c) *Paramecium*; d) *Opercularia*.

Vários estudos foram anteriormente desenvolvidos em sistemas biológicos de tratamento de águas residuais de forma a analisar a comunidade de protozoários existente e averiguar os consequentes efeitos no efluente tratado. Ludzack & Noran (1965) e Kincannon & Gaudy (1968) verificaram que a ausência de protozoários do meio provoca um aumento dos sólidos suspensos do efluente, logo a turbidez é também maior. O estudo realizado por Salvadó *et al.* (2001) permitiu conferir o efeito de adições crescentes de sal na comunidade de protozoários e metazoários. As concentrações estudadas variaram de 0,3 % a 4,0 % de NaCl. Entre 0,3 % e 1,0 % observou-se que poucas espécies sobreviveram. Os protozoários mais resistentes à adição de elevadas concentrações de sal foram a *Vorticella* sp. e *Opercularia articulata* (ambos ciliados sésseis). A partir de 1,0 % de sal não se verificou qualquer presença de protozoários no sistema, evidenciando o efeito negativo do sal na presença de protozoários no licor misto.

Pela avaliação microscópica microbiana existente no *RDS* em estudo, foi possível também a observação da comunidade de protozoários que será discutida no Capítulo 3.

1.7. REMOÇÃO BIOLÓGICA DE NUTRIENTES

O azoto e o fósforo existem naturalmente nos corpos receptores e são indispensáveis ao ciclo vital dos microrganismos. O problema reside quando são encontrados em excesso. A elevada concentração de azoto e fósforo pode provocar problemas das mais variadas formas. A eutrofização é o fenómeno que ocorre devido ao excesso de certos nutrientes básicos num corpo receptor, causando o desenvolvimento indesejável de plantas aquáticas. O processo é normalmente acentuado quando os corpos receptores se encontram estagnados como é o caso dos lagos, lagoas e reservatórios.

Neste capítulo tem-se referido a importância da remoção de nutrientes (RBN), fundamentalmente de **azoto e fósforo**. Contudo, falta ainda divulgar como é possível a sua remoção juntamente com a remoção de matéria orgânica. Vários estudos efectuados demonstram que os processos biológicos são de confiança e eficientes para a remoção de fósforo e azoto (Metcalf & Eddy, 1991).

1.7.1. REMOÇÃO DE AZOTO

Há várias formas de azoto presentes no meio aquático, como por exemplo, amoníaco (NH_3), ião amónio (NH_4^+), nitrato (NO_3^-), nitrito (NO_2^-), óxido nitroso (N_2O), azoto molecular (N_2) e azoto orgânico na forma de aminoácidos, péptidos, aminas, etc.

Segundo Metcalf & Eddy (1991), no tratamento de efluentes os compostos azotados sofrem transformações do tipo **assimilação**, **nitrificação** e **desnitrificação**, convertendo o azoto amoniacal em produtos que podem ser removidos dos efluentes. Na Figura 10 encontra-se representada a transformação de azoto nos processos biológicos.

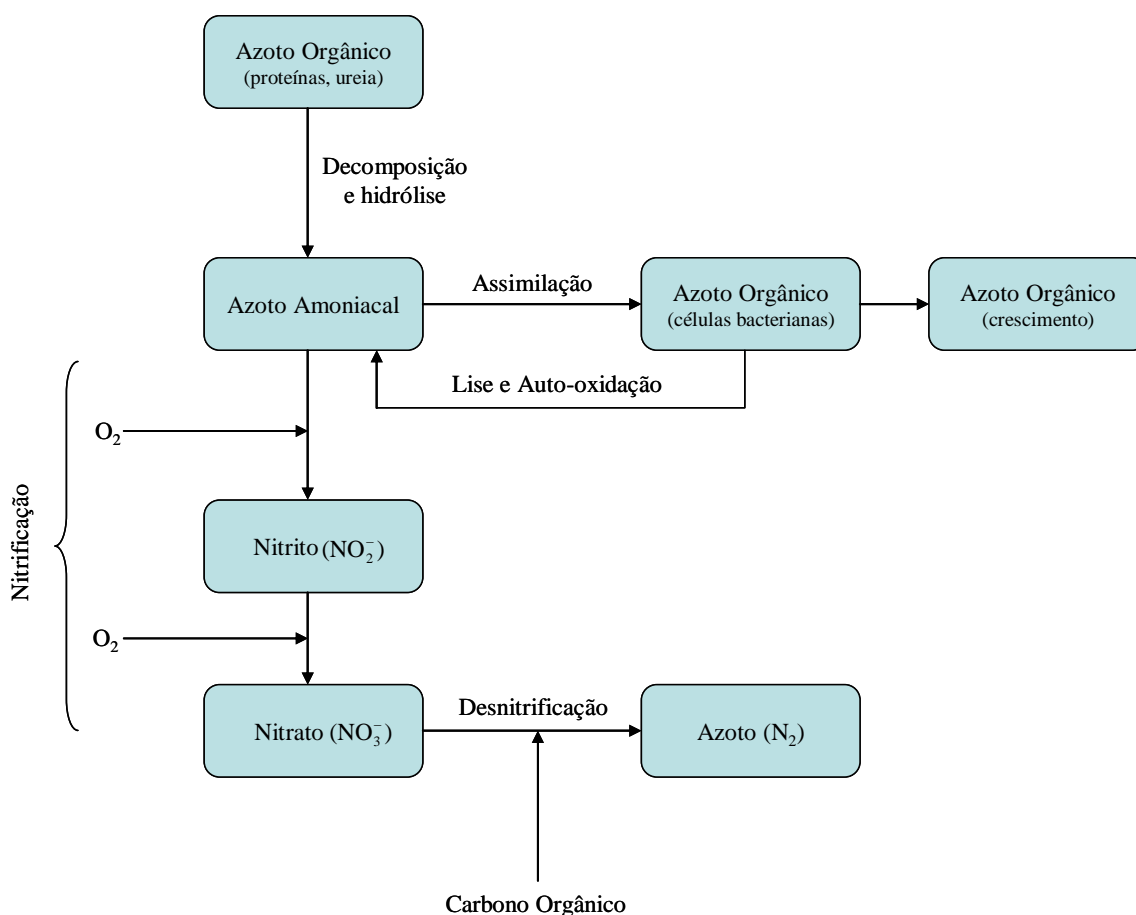
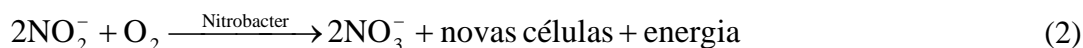
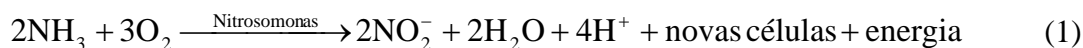


Figura 10. Transformação do azoto orgânico nos processos de tratamento biológico (Adaptado de Metcalf & Eddy, 1991).

Na primeira fase do processo o azoto orgânico é convertido em azoto amoniacal enquanto na assimilação ocorre o processo inverso. A **decomposição e hidrólise** consistem na transformação do azoto orgânico por intermédio de enzimas catalisadoras, produzindo, no final da reacção, o ião NH_4^+ . A fonte de azoto orgânico é o material produzido após a **hidrólise** química: aminoácidos, açúcares, aminas e péptidos. Posteriormente ocorrem as etapas indispensáveis à remoção de azoto dos efluentes.

NITRIFICAÇÃO

O processo de **nitrificação** envolve a oxidação biológica de azoto amoniacal a nitrato em duas etapas, onde ambas são catalizadas por bactérias autotróficas sob condições aeróbias. Na primeira etapa ocorre a oxidação do azoto amoniacal a nitrito pela acção de bactérias do género *Nitrosomonas*. O nitrito é, então, oxidado a nitrato através da catálise biológica promovida pelas bactérias do género *Nitrobacter*. O processo de nitrificação pode ser descrito pelas seguintes reacções:



A conversão de azoto amoniacal a nitrito é considerada a etapa limitante do processo. Vários estudos revelaram também que a acumulação de nitrito se deve à inibição dos microrganismos do género *Nitrobacter* que são responsáveis pela oxidação do nitrito a nitrato. Normalmente esta inibição deve-se à elevada concentração de azoto amoniacal livre, variações na temperatura, baixas concentrações de oxigénio dissolvido e elevadas concentrações de sólidos suspensos (Coelho, 1998). Além disso, devido à toxicidade do nitrito é essencial que as reacções (1) e (2) decorram sequencialmente para promover a produção de nitrato e preservar a acumulação de nitrito (Csuros & Csuros, 1999).

O processo de oxidação em questão é afectado por vários factores sendo os mais importantes o *pH*, a temperatura e a concentração de oxigénio dissolvido (*OD*). Outros factores também parecem ter influência sobre a nitrificação, tais como a quantidade de bactérias heterotróficas e a relação Carbono/Azoto (*C/N*) no meio. Estes factores explicam, em parte, as variações encontradas nos valores dos parâmetros cinéticos (Ferraz & Gobbi, 1991).

▪ *pH*

Em sistemas de lamas activadas, Grady & Lim (1980), referem que o *pH* situado entre 7 e 9 é o mais favorável para o desenvolvimento de organismos nitrificantes. Para além desta gama de *pH* podem ser também observados outros valores, provavelmente porque o *pH* não só influencia a taxa de crescimento como também a solubilidade de diferentes compostos (azoto amoniacal, nitrito e metais). À medida que o *pH* diminui, a taxa de oxidação de azoto amoniacal diminui devido ao ião H^+ influenciar a taxa de crescimento das bactérias nitrificantes (Castro, 2003).

▪ Temperatura

O processo de nitrificação ocorre numa larga faixa de temperatura, de 4 °C a 45 °C, sendo a temperatura óptima para as bactérias *Nitrosomonas* igual a 35 °C. Para as

bactérias *Nitrobacter* temperatura óptima encontra-se entre 35 °C e 42 °C. Este processo é fortemente dependente da temperatura (Ferreira, 2000).

- **Razão C/N**

A razão carbono orgânico/azoto na alimentação do processo tem influência na dinâmica das populações de nitrificantes e de organismos heterotróficos que constituem a biomassa no reactor. A multiplicação da população de microrganismos presentes no reactor está relacionada com a manutenção da razão carbono orgânico/azoto (C/N) a níveis tão reduzidos quanto possíveis. Uma alta razão C/N retarda a acumulação das bactérias nitrificantes, principalmente, das responsáveis pela nitrificação. Com isto o tempo necessário para a etapa de oxidação do azoto amoniacal a nitrito aumenta consideravelmente (Castro, 2003).

- **Oxigénio Dissolvido (OD)**

O oxigénio dissolvido no reactor é um pré-requisito indispensável para ocorrer a nitrificação. No caso de concentrações de oxigénio dissolvido abaixo de 0,5 mg/L, a taxa de nitrificação é praticamente nula, apesar de as bactérias resistirem em condições anóxicas (Coelho, 1998). Esta concentração crítica depende das características da biomassa, da taxa total de respiração, das resistências difusionais e da transferência de massa.

Para que se atinja a taxa de nitrificação máxima, a literatura recomenda valores acima de 0,5 mg/L de oxigénio dissolvido no meio líquido. No entanto valores mais elevados, entre 2,0 – 4,0 mg/L, devem ser mantidos no tanque arejado para garantir que em pontos de acesso mais difícil do oxigénio, como no interior dos flocos formados durante o processo, seja mantida uma concentração superior à crítica (Coelho, 1998).

Devido a todos estes factores, o processo de nitrificação nos efluentes é considerado como o mais instável no processo de remoção biológica de nutrientes, sendo por isso essencial o seu controlo durante o tratamento por lamas activadas.

DESNITRIFICAÇÃO

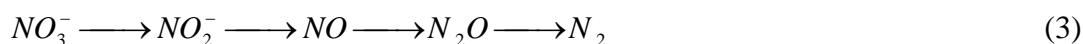
Este processo biológico é aplicado para remover nitrato dos efluentes pela sua redução a azoto molecular (N₂). Para que esta transformação ocorra, os microrganismos

responsáveis pela transformação requerem uma fonte de carbono orgânico (dador de electrões), que pode até ser adicionado artificialmente (von Sperling, 1997). O substrato orgânico utilizado nesta reacção é sempre proveniente de moléculas pequenas, ou “matéria orgânica biodegradável”. Entre as substâncias possivelmente assimiláveis estão o metanol, glicose, glicerina, etanol, acetato e ácidos gordos voláteis. O substrato orgânico deveria ser nutriente pertencente à carga poluente a ser tratada. Entretanto, há efluentes onde a concentração de carbono orgânico é muito baixa para que ocorra a desnitrificação.

Em unidades de tratamento em escala industrial, cujo interesse é a remoção conjunta da carga orgânica e a transformação do azoto nas formas de azoto amoniacal e nitrato na forma molecular (N_2), é necessário, frequentemente, o uso de fontes externas de carbono na etapa de desnitrificação, pois o nitrato é o produto de uma reacção de nitrificação em condições aeróbicas, nas quais ocorre também eliminação do carbono orgânico (Souza, 2000).

Admite-se que o nitrato é reduzido a nitrito pela enzima nitrato redutase e o nitrito é posteriormente reduzido a N_2O e N_2 . Uma vez que a redução do nitrato é realizada quando o oxigénio molecular não está presente, há uma necessidade de condições totalmente anóxicas para que a desnitrificação ocorra e o nitrato desempenhe a função do oxigénio na cadeia de transporte de electrões (Furtado *et al.*, 1993).

A sequência de produtos formados na desnitrificação encontra-se representada na equação (3).



Este processo pode ser realizado por uma série de géneros microbianos encontrados em sistemas de tratamento de efluentes, incluindo *Alcaligenes*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Aerobacter*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Micrococcus* e *Proteus*. As bactérias desnitrificantes são bioquimicamente e taxionomicamente diversas, sendo a maioria heterotróficas e como tal oxidam substâncias orgânicas.

A desnitrificação pode ocorrer paralelamente à nitrificação e em sistemas aeróbios de lamas activadas. Este facto deve-se à formação de zonas pobres em oxigénio, criando zonas anóxicas no interior dos flocos microbianos. Este fenómeno pode também ocorrer nos sedimentadores de lamas, onde a disponibilidade de oxigénio

é escassa e a de nitrato é mais elevada proveniente das zonas de nitrificação arejadas (Ferreira, 2000).

Mais uma vez, existem vários factores que afectam o processo de desnitrificação (pH , temperatura e a concentração de OD). Outro dos factores a ter em atenção para o processo de desnitrificação é a presença de nitrato.

- **pH**

De uma maneira geral, a taxa máxima ocorre na faixa de pH entre 7,0 e 7,5, diminuindo linearmente com a redução e com o aumento de pH . Para um pH de 6,0, as taxas de desnitrificação variam entre 40 e 80 % do valor máximo. Para um pH de 8,0 as taxas de desnitrificação variam entre 70 e 90 %, aproximadamente. Apesar da diversidade de informações concluiu-se que se devem usar valores próximo à neutralidade, evitando-se inferiores a 6,0 e superiores a 8,0 (Metcalf & Eddy, 1991).

- **OD**

A ausência de oxigénio dissolvido é um pré-requisito para que ocorra a desnitrificação, existindo a necessidade de que haja condições anóxicas no floco, ou seja, na vizinhança imediata das bactérias desnitrificantes. Isto não impede que haja concentrações reduzidas de oxigénio dissolvido no meio e mesmo assim ocorra a desnitrificação, pelo facto das bactérias estarem num micro-ambiente anóxico do floco.

- **Óxido de Azoto**

A presença de NO_3^- é importante para induzir a enzima nitrato redutase. Desta forma é necessária a presença de NO_2^- no meio. Baixas concentrações de NO_3^- controlam a taxa de desnitrificação com cinética de primeira ordem. Altas concentrações de NO_3^- geralmente afectam a cinética de redução, inibem a redução enzimática de NO , causando a acumulação de N_2O .

Neste trabalho, pretende-se apenas o estudo do processo de nitrificação, dada a estratégia operacional adoptada. No Capítulo 3 discute-se esta etapa extremamente importante no processo de remoção de azoto.

1.7.2. REMOÇÃO DE FÓSFORO

O fósforo presente em águas residuais encontra-se geralmente sob a forma de fosfato. Em águas residuais domésticas, o fósforo aparece, principalmente, como: fósforo orgânico, polifosfato e ortofosfato. A remoção de fósforo das águas residuais envolve a incorporação de fosfato aos sólidos em suspensão e a consequente remoção desses sólidos. O fósforo pode ser incorporado em microrganismos ou removido por precipitação química (Metcalf & Eddy, 1991).

Neste trabalho, torna-se também relevante a abordagem da remoção biológica de fósforo (Figura 11) uma vez que se trabalhou com um sistema de lamas activadas operando num Reactor Descontínuo Sequencial. No entanto, a estratégia utilizada no *RDS* não apresenta uma fase anaeróbia, não se esperando por isso elevadas percentagens de remoção de fósforo do afluente, que seria possível atingir em condições de anaerobiose.

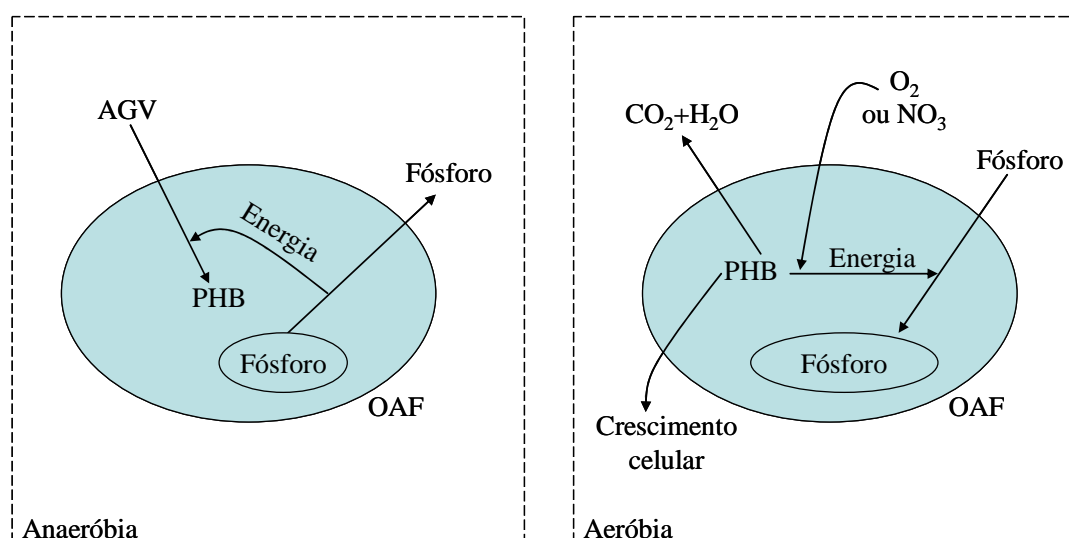


Figura 11. Remoção biológica de fósforo.

A zona anaeróbia oferece uma vantagem competitiva para os armazenadores de fósforo visto que captam os substratos nesta zona antes dos microrganismos não armazenadores de fósforo. Assim nesta zona desenvolve-se ou selecciona-se uma grande população de microrganismos armazenadores de fósforo, já que os níveis são significativamente elevados.

O organismo associado mais frequentemente e com mais destaque à remoção de fósforo pertence ao género *Acinetobacter*. Um importante benefício da selecção desta população é a prevenção da proliferação de bactérias filamentosas que causam problemas de intumescimento das lamas.

A presença de um reactor anaeróbio com ácidos gordos voláteis (AGV) a montante dos outros reactores causa o desenvolvimento de uma população bacteriana que normalmente não se desenvolve no sistema de lamas activadas convencional (*OAF* - Organismos Acumuladores de Fósforo). Em ambiente anaeróbio, os organismos aeróbios não utilizam material orgânico; já os *OAF* têm a opção de armazenar nas suas células os AGV (acetato) do material orgânico presente no afluente como polihidroxibutirato (*PHB*). Os organismos usam a energia de polifosfato armazenado anteriormente, que então se transforma em fosfato e passa para a fase líquida.

Nas zonas anóxicas e aeróbias seguintes, o *PHB* é metabolizado pelos *OAF* para finalidades catabólicas e anabólicas, usando nitrato e oxigénio como oxidantes. Parte da energia obtida no catabolismo vai para a regeneração do polifosfato perdido no reactor anaeróbio. Nesse processo ocorre absorção de fosfato da fase líquida para dentro dos organismos. Outra parte da energia é usada para o crescimento dos *OAF*.

Os *OAF*, ao captar e reter material orgânico num ambiente anaeróbio, têm vantagem sobre as bactérias mais usuais de lamas activadas que não tem actividade metabólica num ambiente anaeróbio.

Como o crescimento dos *OAF* depende directamente da presença de acetato no reactor anaeróbio é extremamente importante evitar a entrada de nitrato, uma vez que no processo de desnitrificação o acetato seria oxidado pelos organismos convencionais (Gaspar, 2003).

O acompanhamento das concentrações de fósforo sob a forma de fosfato, com o aumento da concentração de sal, permitiu obter algumas conclusões que serão apresentadas no Capítulo 3.

1.8. ANÁLISE DE IMAGEM

Para além das propriedades biológicas e químicas que envolvem a remoção de nutrientes e de matéria orgânica e das propriedades físicas (dispersão, distribuição de

tamanhos, velocidade de sedimentação), a determinação da morfologia dos agregados microbianos pode ser realizada recorrendo à análise de imagem.

A análise de imagem é uma poderosa ferramenta para o estudo da morfologia e fisiologia da biomassa bacteriana e das suas relações com as condições operacionais de processos no tratamento de efluentes, tanto anaeróbio quanto aeróbio. Esta caracterização permite o estudo do comportamento dos microrganismos (formação dos flocos, índice de bactérias filamentosas, protozoários, grânulos anaeróbios). A determinação destes agregados microbianos e a determinação dos parâmetros relacionados com os filamentos são informações bastante valiosas que a análise de imagem pode oferecer aos sistemas biológicos de tratamento de efluentes.

Em processos aeróbios, o reconhecimento das espécies de protozoários e também de metazoários nos tanques de arejamento fornecem informações consideráveis relativas às condições de operação das ETAR. De facto, têm sido desenvolvidas técnicas de processamento de imagem para identificar automaticamente os protozoários nos tanques de arejamento e as espécies mais comuns de metazoários. Têm sido também testados métodos automatizados da análise de imagem para caracterizar a morfologia dos flocos aeróbios, sendo ainda desenvolvidos procedimentos de aquisição de imagem para optimização deste processo de aquisição. Seguidamente, são descritos alguns dos métodos actualmente mais utilizados na aquisição de imagens, bem como os procedimentos empregues no tratamento posterior.

Os métodos de aquisição por câmara de vídeo acoplada a microscópio são os mais utilizados. As imagens são obtidas através de uma placa de aquisição de imagens instalada no computador. Através da placa de aquisição de imagens, a informação analógica é transformada em informação digital em que cada píxel corresponde a um espaço da imagem (com um mínimo limitado pelos sensores de captura da câmara) e possui um valor que corresponde à média desse espaço. Os formatos de ficheiros de gravação mais comuns são o *tiff* (*Tagged Image File Format*), o *bmp* (*Windows Bitmap*) e o *gif* (*CompuServe Bitmap*).

Depois de adquiridas, as imagens são processadas de modo a obter-se uma imagem binária contendo apenas a informação relevante para o estudo pretendido. O primeiro passo do processamento de imagens é normalmente a eliminação do ruído que surge durante a aquisição da imagem. Neste passo pode-se utilizar um filtro em que cada píxel é substituído pelo valor de uma operação englobando os vizinhos do mesmo.

Os filtros mais comuns para este fim são os filtros de média, de mediana, adaptativo, o filtro Wiener e os filtros de baixas frequências, entre outros (Dougherty, 1994).

Seguidamente, deve aumentar-se o contraste da imagem visualizada, através de uma normalização, equalização por histograma ou alterando a intensidade de visualização através da aplicação de uma função logarítmica ou exponencial ao valor de cada píxel (Russ, 1995).

Na binarização da imagem é necessário estabelecer um limite de detecção de cor que distinga os objectos do fundo. Este limite pode ser definido manualmente ou obtido automaticamente pelo cálculo da média ou da mediana da imagem. As imagens podem ser binarizadas, o que possibilita a obtenção dos objectos com valor 1 e do fundo com valor 0 (os objectos surgem em cor branca sobre um fundo preto). Por vezes é necessário melhorar a imagem binária de modo a resolver alguns problemas, tais como: remoção de objectos que se encontrem parcialmente cortados pela fronteira da imagem, de modo a não falsear os resultados obtidos; remoção de sujidades (fragmentos que são eliminados pelo programa concebido quando a sua área superficial é inferior a um determinado valor), o que pode ser conseguido através de um filtro de tamanho ou forma que apenas selecciona os objectos; separação de objectos contíguos através de operações booleanas, erosões, dilatações, entre outras.

A partir das imagens binárias são calculados os parâmetros de interesse como por exemplo o número de objectos, tamanho, distribuição de áreas, dimensões fractais, parâmetros morfológicos (esfericidade, compacidade, excentricidade, etc.), entre muitos outros. A imagem binária pode ainda servir como uma máscara das regiões de interesse na imagem original, e proceder também à determinação de momentos mássicos e tons de cinzento, entre outros.

Em geral, a análise de imagem consiste na segmentação, passo onde se realiza a distinção entre os objectos e o fundo da imagem resultando numa imagem binária. Para filamentos essa análise acaba por ser mais difícil uma vez que são necessárias operações de realce devido às dimensões dos filamentos serem menores do que os flocos. Finalmente, procede-se ao reconhecimento dos objectos a partir da luminosidade e da forma, já que estes dois são os critérios mais importantes.

É possível relacionar a morfologia dos microrganismos existentes nos sistemas biológicos com as propriedades de sedimentação das próprias lamas, como demonstram os trabalhos de Ganczarczyk (1994) ou de Grijspeerdt & Verstraete (1997).

Em trabalhos mais recentes, foi determinada a quantidade de bactérias filamentosas através dos estudos de da Motta *et al.* (2001a, 2001b), usando posteriormente esses dados para monitorizar problemas de decantabilidade nas estações de tratamento de águas residuais. Amaral *et al.* (2002, 2005) relacionaram os parâmetros morfológicos dos flocos e dos filamentos com os *SST* e *IVL* através de uma técnica de estatística multivariável designada por *Método dos Mínimos Quadrados Parciais (PLS)*.

Apesar do seu elevado potencial, poucos foram os estudos sobre a caracterização morfológica automática dos protozoários e dos metazoários através da análise de imagem. O uso de parâmetros morfológicos e das dimensões fractais acoplados às técnicas de estatística multivariável tais como a *Análise de Componentes Principais (PCA)*, para identificar protozoários e metazoários são referidos nos trabalhos de Amaral *et al.* (1999). Actualmente o reconhecimento de protozoários por processamento de imagem tem ganho ênfase na comunidade científica recorrendo a análise discriminante e também a redes neuronais.

Neste trabalho pretende-se efectuar o estudo dos flocos microbianos por análise de imagem, visualizando a alteração de conformação de acordo com o choque resultante da adição crescente de sal no sistema.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. DESCRIÇÃO DA UNIDADE EXPERIMENTAL

Os estudos cinéticos, de sedimentação e a análise de imagem das lammas activadas foram conduzidos em laboratório utilizando um *RDS* (em acrílico com capacidade para 50 L) contendo aproximadamente 5 L de um inóculo. Na Figura 12 observa-se ao lado do *RDS* o tanque de alimentação de PVC com capacidade para 50 L de afluente. No interior do *RDS* encontra-se um agitador Heidolph (RZR2102) constituído por um sistema de agitação tipo pá (com 3 pás) tendo como função a homogeneização do meio líquido. O afluente existente no tanque de alimentação foi adicionado ao *RDS* recorrendo a uma bomba LMI, modelo Liquitrin DPC-40. O arejamento foi fornecido através de um compressor (modelo CCA2, CIREI), com filtro de ar, válvula do tipo “on-off” e mangueira dispersora para a redução do tamanho das bolhas de ar que entram no sistema. Este sistema de arejamento encontrava-se incorporado no *RDS*. Pode-se observar pela mesma Figura 12 que a unidade experimental conta com um microcomputador dedicado à obtenção em linha da base de dados e à exibição das variáveis do processo. Utilizou-se um *software* comercial de controlo supervisor FIX-DMACS MMI versão 6.2 (*The Intellution Inc.*) cujo painel de operação pode ser observado pela Figura 13. O sistema de controlo permite monitorizar o sistema de alimentação bem como a agitação e o oxigénio dissolvido no licor misto.

Foram utilizados eléctrodos de *pH* (*Actron*), oxigénio dissolvido (*Danfoss*), potencial de oxidação-redução (*Actron*) e nível (*Smar*) na monitorização em linha do sistema. Os dados adquiridos eram enviados ao controlador CD-600 (*Smar*) através dos respectivos transmissores.

Como foi referido no Capítulo 1, o acompanhamento do *pH* é de extrema importância devido ao crescimento microbiano e a manutenção da biomassa. O potencial de oxidação-redução reflecte variações do sistema, tais como a concentração de oxigénio dissolvido, de matéria orgânica, de alguns compostos tóxicos e da actividade microbiana. Indica inclusive, algumas condições de operação do sistema, como a carga elevada de nutrientes e excesso ou falta de arejamento.



Figura 12. RDS utilizado na realização dos testes laboratoriais.

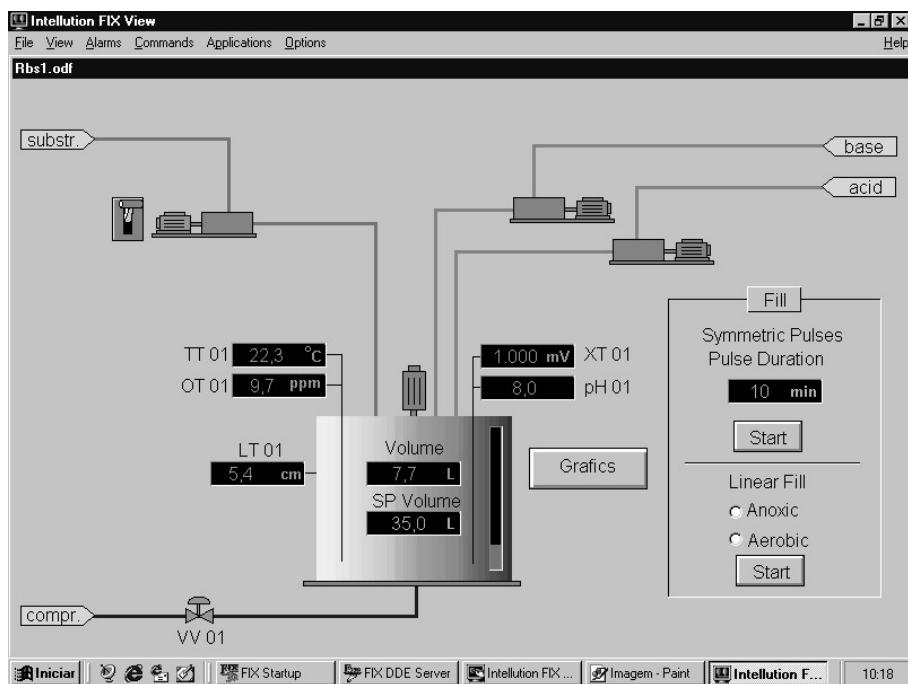


Figura 13. Painel de controlo supervisor – Operação do processo.

2.2. INÓCULO E ACLIMATAÇÃO

Na realização deste trabalho foi necessário recorrer a um inóculo cedido pelo Sistema Petrobrás S.A., proveniente da estação de tratamentos de efluentes industriais da Refinaria Gertúlio Vargas (PR) – Lamas REPAR. O inóculo foi mantido no interior do reator durante todo o estudo e o volume inicial de biomassa presente no reator era aproximadamente de 5 L com concentração média de 2300 mg/L em SSV.

Quando se pretende a remoção de compostos orgânicos específicos, torna-se necessária a aclimação da biomassa ao efluente. O tempo necessário para a aclimação dos microrganismos depende de vários factores, entre eles destacam-se a fonte de biomassa, a temperatura de operação e a idade das lamas, podendo ser de apenas alguns dias ou então 5 a 6 semanas (Eckenfelder, 2000).

Uma vez que este trabalho pretende verificar o desempenho do *RDS* a crescentes concentrações de sal, o inóculo foi submetido a etapas de aclimação sempre que se alteravam as concentrações de NaCl em estudo. A aclimação foi essencial para que os microrganismos apresentassem estabilidade e capacidade de degradação às interferências que foram introduzidas no processo biológico. Deste modo, antes de cada avaliação cinética, os microrganismos adaptavam-se durante 15 dias ao NaCl adicionado em concentrações crescentes. De 2 em 2 dias era adicionado ao reator efluente juntamente com a concentração de sal em estudo no momento. Nesse mesmo período de adaptação, foram recolhidas amostras para análise da eficiência de remoção de azoto amoniacal e de *CQO*, a fim de verificar a adaptação da biomassa e capacidade de remoção.

2.3. COMPOSIÇÃO DO EFLUENTE

O efluente utilizado em todos os testes foi de natureza sintética, variando apenas as concentrações de sal utilizadas. A composição do efluente utilizado para este estudo apresenta-se na Tabela 5 (Coelho, 1998). A presença de alguns elementos com concentrações muito baixas na composição do efluente, tem como objectivo a manutenção da biomassa existente no reactor biológico.

Tabela 5. Composição do efluente sintético utilizado para os vários testes realizados.

Componente	Concentração / mg/L
NH ₄ Cl	76,1
C ₆ H ₁₂ O ₆	300
MgSO ₄ .7H ₂ O	16,7
NaHCO ₃	243,3
Na ₂ CO ₃	162,2
Na ₂ HPO ₄ .12H ₂ O	46,2
CaCl ₂ .7H ₂ O	4,7
KCL	4,7
CuSO ₄	> 0,2
ZnSO ₄ .7H ₂ O	> 0,2
MnSO ₄ .HO	> 0,2
FeCl ₃ .6H ₂ O	> 0,2
CQO	300
NH ₃	25
NO ₃	0,0
PO ₄	7,0

O estudo do efeito do sal no desempenho do *RDS* iniciou-se com um ensaio controlo sem sal no efluente. Após análises periódicas dos índices de remoção de carbono e azoto, e verificando que a biomassa se apresentava em actividade metabólica adequada, promoveu-se a aclimação da biomassa ao composto inibitório iniciando-se a adição de sal (NaCl) ao meio reaccional. O meio sintético utilizado apresentava a composição citada na Tabela 5 acrescido de variadas concentrações de sal (0,5 % a 6,0 %).

2.4. DESEMPENHO DO REACTOR EM CONDIÇÕES SALINAS

Para observar o desempenho do *RDS*, foram realizados vários testes com o intuito de avaliar o comportamento das variáveis chave em função do aumento da concentração salina.

2.4.1. ESTRATÉGIA PULSANTE

Os estudos do desempenho do *RDS* decorreram durante 360 minutos. A estratégia, conforme mostra a Figura 14, consiste na alternância da fase aeróbia para a fase anóxica de 30 em 30 minutos. Durante os 210 minutos iniciais a alimentação variava da mesma forma. Nos 150 minutos finais suprimiu-se a alimentação.

Optou-se pelo enchimento em pulsos simétricos (relacionado com o caudal de alimentação) devido ao desempenho demonstrado pelo *RDS* quando comparado com o enchimento linear em trabalhos desenvolvidos por Coelho (2000). Esta estratégia visa a obtenção de elevadas percentagens de remoção de azoto amoniacal do efluente, minimizando as concentrações inibitórias para os microrganismos no interior do reactor. De notar que a agitação no reactor esteve sempre presente ao longo de todo o período experimental. No final de cada teste procedeu-se à etapa de separação das lamas do efluente tratado por sedimentação.

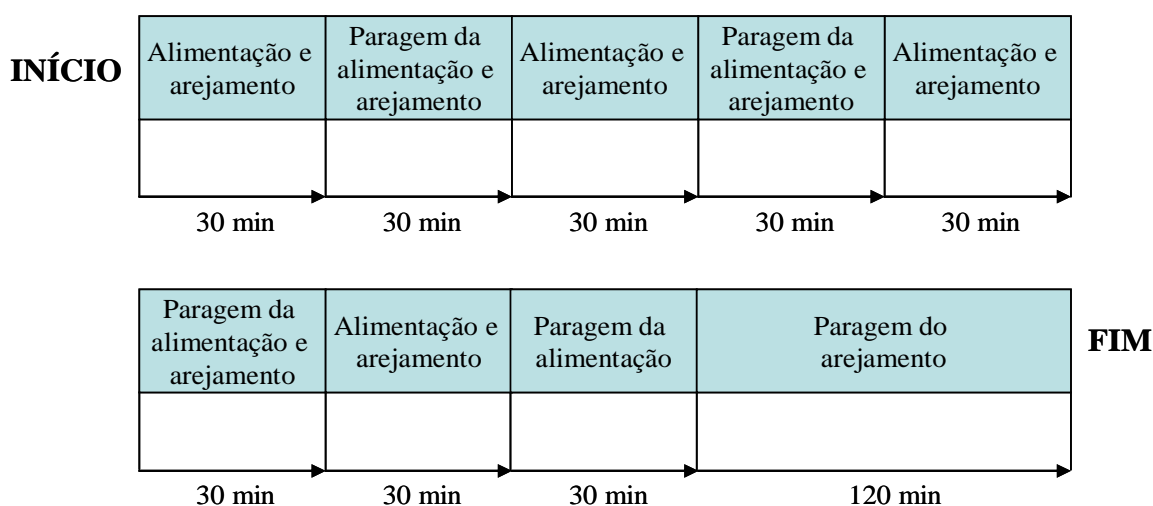


Figura 14. Sequência de etapas utilizada na estratégia pulsante.

Para uma melhor compreensão da estratégia adoptada, apresenta-se nas Figuras 15 e 16 a variação de volume e de oxigénio dissolvido no interior do reactor,

respectivamente. Ambos os dados foram adquiridos em linha a partir do software que supervisiona todo o processo. Os restantes testes realizados apresentam uma tendência semelhante à que se segue.

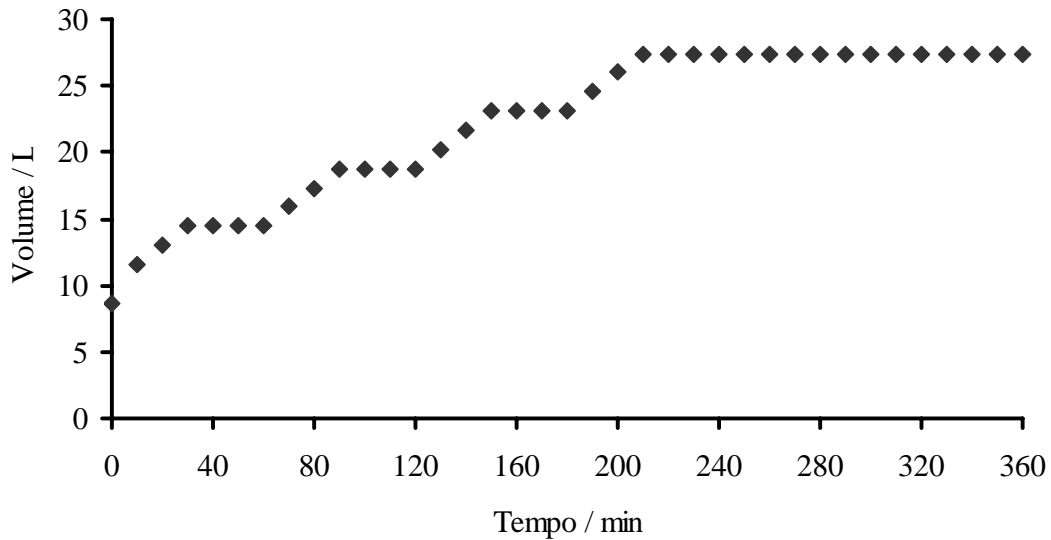


Figura 15. Variação do volume do reator.

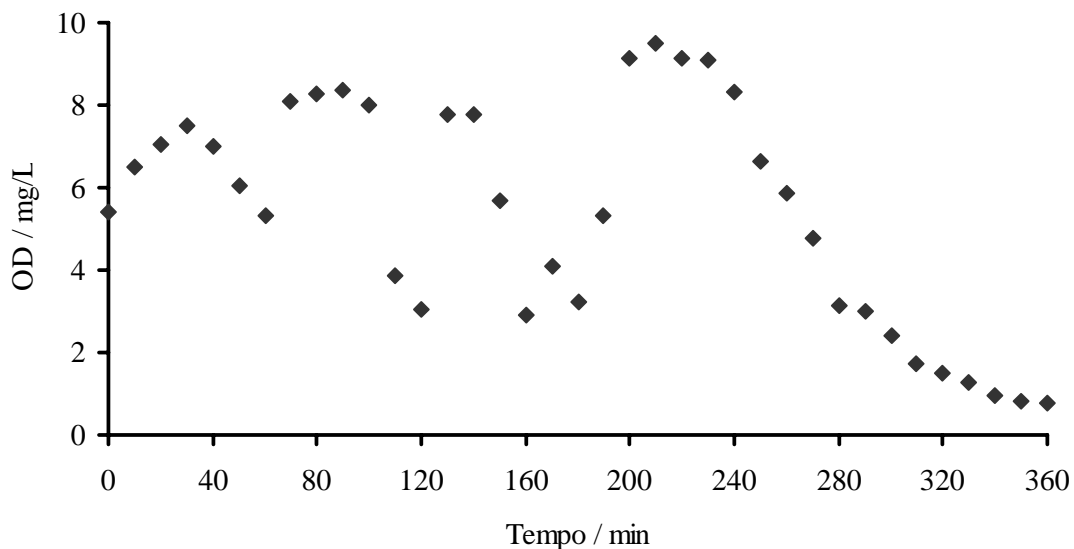


Figura 16. Variação do oxigénio dissolvido.

Como foi anteriormente referido, a estratégia pulsante consiste na adição e supressão controlada de efluente e de oxigénio no sistema, de forma a permitir a nitrificação do efluente sem afectar a remoção por parte da biomassa existente no processo. Sendo o sistema de tratamento em *batch*, estes dados apontam para o aumento

do volume de licor misto existente no reactor ao longo do tempo, com vários patamares devido à paragem da alimentação. Nesta fase ocorre a síntese microbiana dos nutrientes e da matéria orgânica. Nos 150 minutos finais suprimiu-se a alimentação, permanecendo o volume constante.

Quando se opera um sistema na presença de microrganismos aeróbios torna-se fundamental o arejamento do processo. O arejamento permite não só o consumo de nutrientes como também a homogeneização do sistema que por vezes não é satisfatória quando se utiliza apenas um agitador. Esse arejamento permite aumentar a transferência de oxigénio do sistema e consequentemente aumentar também a eficiência de remoção de matéria orgânica e de nutrientes. Pela Figura 16 observa-se que a partir de 240 minutos de ensaio se extinguiu o arejamento detectando-se no final níveis relativamente baixos de oxigénio.

Os resultados finais dependem das condições operacionais (carga alimentada de efluente e *OD*). Sendo assim, para garantir a reprodutibilidade dos resultados realizaram-se testes em duplicado de forma a manter os valores referidos na Figura 15 e na Figura 16 constantes.

2.5. MÉTODOS ANALÍTICOS

Durante cada teste foram recolhidas amostras (análises em diferido) da alimentação, do efluente antes de iniciar o teste no reactor e a cada trinta minutos foi retirada uma nova amostra para o acompanhamento das concentrações de azoto amoniacal, nitrato, fosfato e carga orgânica (expressa em *CQO*). No final de cada teste foi também avaliada a turbidez do efluente e o *IVL*.

As análises em diferido foram realizadas de acordo com os procedimentos descritos no manual *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA *et al.*, 1989).

Para observar a variação da concentração de biomassa ao longo dos testes, foram retiradas amostras nos tempos, 0 minutos (início do teste), 210 minutos (fim da alimentação ao reactor) e 360 minutos (fim do teste) para determinação dos *SSV*. Através desta análise é possível averiguar o crescimento microbiano durante cada ensaio.

Após a realização dos testes em duplicado, procedeu-se à análise da biomassa por microscopia óptica (Nikon, mod. Eclipse E200) de forma a observar a presença e também a variação da população microbiana durante o processo. A microscopia permitiu a implementação de um sistema de análise digital de imagens de caracterização microbiológica da biocenose do reactor.

2.5.1. DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE AZOTO AMONIAL

Esta análise é efectuada empregando-se um eléctrodo ião selectivo (Corning) de azoto amoniacal de acordo com o procedimento 4500 – NH_3 – D (APHA *et al.*, 1989). A 5 mL da amostra são adicionados 50 μL de solução de NaOH 10 M. Foi construída previamente uma curva padrão utilizando cloreto de amónio (NH_4Cl) em concentrações variadas devido às variações de corrente.

2.5.2. DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE NITRATO

A análise foi realizada através de um método colorimétrico de acordo com o procedimento 4.132 existente no *Standard Methods* (APHA *et al.*, 1989).

2.5.3. DETERMINAÇÃO DA CQO

A determinação da carga orgânica foi efectuada pela CQO seguindo o método colorimétrico e a leitura de absorvância no espectrofotómetro (DR 4000UV, HACH) - procedimento 5.220D existente no *Standard Methods* (APHA *et al.*, 1989). Esta metodologia deve ser usada apenas para concentrações salinas inferiores a 500 mg/L (0,5 %). A partir da adição de 0,5 % de NaCl detectaram-se interferências na determinação da CQO devido à precipitação do cloreto existente nas amostras. Procurou-se, então, utilizar a metodologia desenvolvida por Freire & Sant'Anna Jr. (1998) que propõe uma modificação no método de determinação de CQO para efluentes salinos. Mesmo assim, foi necessário efectuar diluições das amostras antes da adição da solução digestora e da solução ácida, uma vez que esta metodologia se aplica a concentrações inferiores a 6,0 % de sal.

2.5.4. DETERMINAÇÃO DE SÓLIDOS SUSPENSOS VOLÁTEIS (SSV)

A concentração da biomassa total foi determinada por método gravimétrico padrão (SSV) nos tempos inicial, final da etapa de enchimento e final do tempo total de cada ensaio usando os procedimentos 2.540D e 2.540E do *Standard Methods* (APHA *et*

al., 1989). Este teste teve como finalidade a obtenção das concentrações de biomassa no interior do reactor biológico de forma a avaliar o efeito do sal.

2.5.5. DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE VOLUMÉTRICO DO LAMAS (IVL)

O IVL é definido como o volume ocupado por 1 g de lodo após uma decantação de 30 minutos determinando a partir da biomassa sedimentada no fim de cada ensaio (procedimento 2.710D do *Standard Methods* APHA *et al.*, 1989). Os resultados referentes ao IVL são também relacionados com o processamento de imagem, como apresentado no Capítulo 3.

2.5.6. DETERMINAÇÃO DA TURBIDEZ DO SOBRENADANTE

A análise da turbidez foi efectuada após a determinação do IVL (sedimentação das lammas durante 30 min). Colocou-se um branco de água destilada no espectrofotómetro (DR 4000UV, HACH) a 860 nm e seguidamente a amostra, onde se obtinha uma turbidez em unidades FTU.

Esta determinação servirá para relacionar com o IVL e permite tirar conclusões relativamente à sedimentabilidade das lammas. Como a turbidez do efluente é também uma forma de estudar a sedimentação das lammas, estes dados são relacionados com o processamento de imagem.

2.5.7. DETERMINAÇÃO DO FOSFATO

Para a determinação da concentração de fosfato foi adoptado um método colorimétrico pela utilização de um reagente de detecção PhosVer®. A leitura de absorvância foi efectuada no espectrofotómetro (DR 4000UV, HACH) a 890 nm.

2.6. AQUISIÇÃO E PROCESSAMENTO DE IMAGEM DAS LAMAS ACTIVADAS

A aquisição das imagens dos flocos de lammas activadas foi efectuada através da técnica de microscopia em campo claro com o auxílio de um microscópio (*Nikon Eclipse 200*), empregando-se a ampliação de 100 vezes para a visualização adequada dos agregados microbianos e mantendo-se constante a iluminação do sistema para todas as amostras. O microscópio é equipado com uma câmara CCD (*Nikon Coolpix 990*) dotada de um cartão de memória removível, sendo a captura das imagens realizada por

uma matriz RGB com dimensões 2048 x 1536 píxeis de 24 bit (16 milhões de cores aproximadamente).

No final do tratamento biológico foram recolhidos 4 amostras do licor misto, mantendo-se um período de tempo máximo entre a recolha e a aquisição das imagens de 30 minutos. As amostras são preparadas depositando cuidadosamente uma gota (50 µL) do licor numa lâmina e coberta com lamela de dimensão (24 x 32) para a observação e aquisição das imagens. Para cada percentagem de sal estudada foram adquiridas cerca de 25 imagens por amostra para processamento posterior (total de 100 imagens).

As imagens digitais adquiridas foram guardadas em formato TIFF no cartão removível de memória e transferidas para o computador com o auxílio de um *driver* de leitura, o qual transfere a representação digital das imagens para o conversor analógico-digital instalado no computador que efectua a leitura do sinal magnético do cartão e armazena a representação digital numa matriz na forma de píxeis no computador.

Para o processamento das imagens digitais utilizou-se um processador *Pentium M* com velocidade de processamento de 1.5 GHz e 512 megabytes de memória.

As imagens digitais dos flocos de lamelas activadas foram processadas através do software de processamento digital de imagens *IMAGE J*. Posteriormente, as imagens binárias obtidas recorrendo ao programa anterior foram utilizadas em ambiente *MATLAB* para a determinação de vários parâmetros fundamentais para a realização do diagnóstico dos agregados microbianos e a sua relação com os parâmetros físico-químicos.

2.6.1. *IMAGE J*

Com a utilização do programa de análise de imagem *IMAGE J* pretende-se obter uma imagem binária representativa dos agregados microbianos, sendo por isso necessário aplicar algum processamento à imagem principal.

A primeira fase do processamento de imagem envolve a conversão da imagem à escala de cinzentos. A escala de píxeis a cinza representam um nível de brilho, variando de preto a branco. Uma imagem que é transformada à escala de cinza (8-bit) aparece com um píxel de valor 0 completamente preto e um píxel com um valor de 255 completamente branco. Já um píxel de valor intermédio deve apresentar uma cor de intermédio.

Seguidamente, aplicou-se a subtracção do fundo da imagem para visualizar os agregados microbianos separados do próprio fundo da imagem. Para seleccionar o campo da imagem de interesse para o operador, realizou-se a aplicação de limites de cinzentos. A partir deste ajuste obtém-se a imagem binária (conversão a preto e branco).

A etapa seguinte pretende remover píxeis com dimensões muito pequenas que não correspondem a flocos. Por diversas vezes surgem pequenas partículas de sujidade (detritos) na lâmina que devem também ser excluídas. Os programas de processamento de imagem estão também aptos para a função de eliminação de sujidade.

Posteriormente, aplicaram-se filtros morfológicos aos objectos da imagem binária. A erosão altera a forma dos objectos nas imagens reduzindo a estrutura dos objectos. Aplica-se uma nova opção de processamento da imagem (XOR) onde a imagem surge apenas com a superfície dos agregados. Esta tarefa é realizada na imagem original com a imagem que sofreu a erosão.

Finalmente, surgiu na imagem original os contornos dos agregados para a análise posterior dos parâmetros morfológicos. Esta imagem tem como objectivo a visualização da área de reconhecimento dos flocos. A Figura 17 mostra todas as etapas de processamento executadas pelo programa *IMAGE J*.

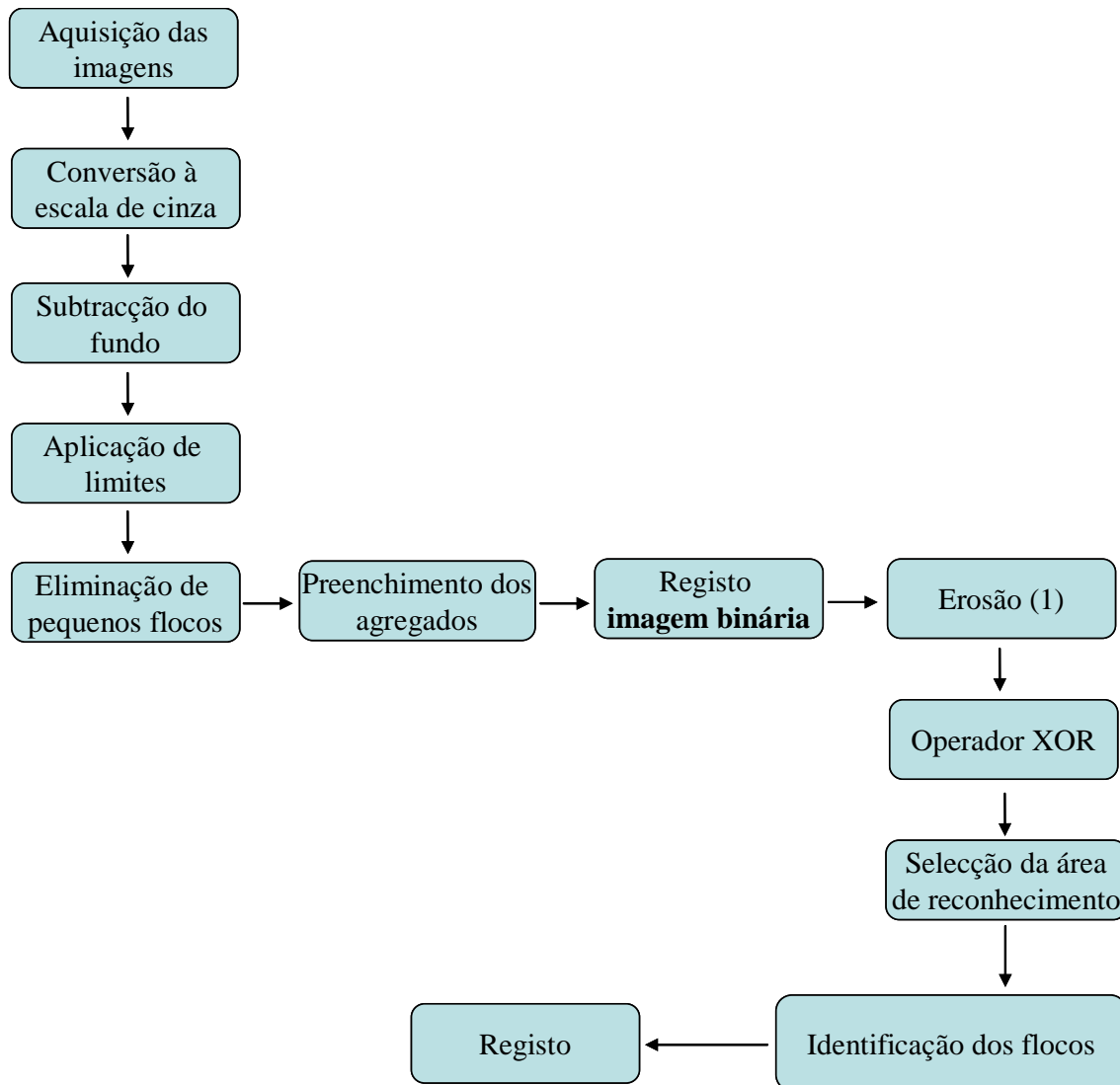


Figura 17. Representação esquemática do processamento e análise das imagens dos flocos microbianos.

2.6.2. *MATLAB*

Amaral (2003), na sua tese de doutoramento desenvolveu um programa em ambiente *MATLAB* para a determinação de vários parâmetros morfológicos de caracterização dos agregados microbianos. Este programa do ponto de vista estrutural dos flocos permite o estudo ao nível das características baseadas na geometria Euclidiana e na determinação das dimensões fractais.

A geometria Euclidiana apresenta algumas dificuldades na descrição de objectos com formas irregulares, contudo deve ser também utilizada na presença de flocos com estrutura regular. Assim, as dimensões fractais surgiram pela incapacidade da geometria Euclidiana em descrever convenientemente as formas encontradas na natureza. O termo

“dimensão fractal” tem definição restrita e contém um vasto leque de grandezas diferentes embora relacionadas, sendo um indicador da complexidade de um objecto, ou seja, permite o estudo de um grande número de convoluções e de irregularidades presentes na fronteira do objecto. Os valores da dimensão fractal são muito afectados por diversos factores: a amostragem, os arredondamentos, a resolução e o próprio valor da dimensão fractal. Como exemplo apresenta-se a dimensão fractal estrutural mássica (DBm) que está compreendida, tal como as demais dimensões fractais, entre os valores de 1 e 2. Esta dimensão fractal tende para 2 em objectos com forma mais regular e homogénea (forma circular adquire valor 2) e para 1 em objectos de forma mais irregular (e fractal), ou com a forma de linha de espessura unitária, de valor 1.

Apesar da relevância dada às dimensões fractais, é dada extrema importância aos resultados obtidos dos parâmetros que permitem o estudo estrutural e morfológico dos agregados.

A Tabela 6 apresenta todos os parâmetros calculados para cada agregado pelo programa *microflocos_param*.

Tabela 6. Parâmetros morfológicos determinados pelo programa *microflocos_param*.

Parâmetros estruturais e morfológicos	Área
	Perímetro
	Comprimento
	Factor Forma
	Convexidade
	Compacidade
	Esfericidade
	Diâmetro Equivalente
	Solidez
	Excentricidade
	Robustez
	Largura
	Dimensões Fractais
	Área Total
Percentagem de Reconhecimento	

Para que a análise de imagem seja representativa do sistema, torna-se necessária a aquisição de elevadas quantidades de imagens servindo ao processamento posterior. Sendo assim, a quantidade de dados adquiridos e de variáveis determinadas é elevada.

Após a aplicação do programa avaliou-se cada um dos parâmetros morfológicos das imagens binárias correspondentes às concentrações de sal em estudo, para observar

os parâmetros que apresentavam relações mais significativas com os agregados. Recorreu-se inicialmente à *Análise de Componentes Principais (PCA)* para esta avaliação.

Habitualmente, algumas das variáveis calculadas correlacionam-se entre si e por isso os dados devem ser comprimidos para conter a informação essencial. A *PCA* é uma ferramenta utilizada na compressão de dados e na recolha de informação encontrando combinações das variáveis, ou factores que descrevam tendências nos dados. Esta análise é importante para compreender as influências dos vários parâmetros determinados aos agregados microbianos. Pode constatar-se também a existência de parâmetros com maior influência nas características estruturais e morfológicas dos agregados.

Seguidamente, utiliza-se o método dos *Mínimos Quadrados Parciais (PLS)* onde são analisadas as variáveis que se correlacionam com alguns parâmetros físico-químicos já determinados experimentalmente (*IVL* e *Turbidez*). A fim de permitir uma melhor compreensão das alterações dos agregados microbianos durante este estudo, o *PLS* foi aplicado aos parâmetros estruturais dos flocos e também aos parâmetros morfológicos.

O *PLS* pode ser considerado como um método comum de regressão dos mínimos dos quadrados. A regressão obtida pelo método de *PLS* é uma técnica recente que combina as características da análise de componentes principais e da regressão múltipla. É particularmente útil quando se necessita prever variáveis dependentes através da análise de variáveis independentes.

A eficiência do ajuste do modelo de *PLS* é determinada pelo erro da previsão de forma similar ao método dos mínimos quadrados. O erro da previsão, assim como o número de vectores significativos pode ser determinado pelo teste de validação.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo avalia-se o desempenho do sistema biológico de acordo com a análise dos diversos parâmetros. Inicialmente são apresentados e discutidos os dados referentes à aclimação da biomassa realizada durante 15 dias para cada condição experimental. Estes dados permitem inferir o estado da remoção biológica durante o período de adaptação dos microrganismos às interferências do sal. Seguidamente, avalia-se o teste padrão a 0,0 % de sal na alimentação ao reactor biológico. Estes resultados surgem como indicadores do funcionamento do sistema sem qualquer interferência. Posteriormente analisam-se as tendências dos vários parâmetros obtidos com adições crescentes de sal. Finalmente, são discutidos os resultados relativos ao processamento digital de imagem dos flocos bacterianos para as concentrações de sal estudadas, comparando-os com os parâmetros indicadores de sedimentabilidade.

3.1. AVALIAÇÃO DA ACLIMATAÇÃO

Nesta secção pretende-se avaliar o desempenho do *RDS* durante o período de aclimação a cada concentração de sal estudada. A aclimação, como foi referido no Capítulo 2, tem como objectivo a adaptação dos microrganismos às condições experimentais em estudo. A variação da concentração de azoto amoniacal foi monitorizada durante o período de aclimação da biomassa e encontra-se representada na Figura 18.

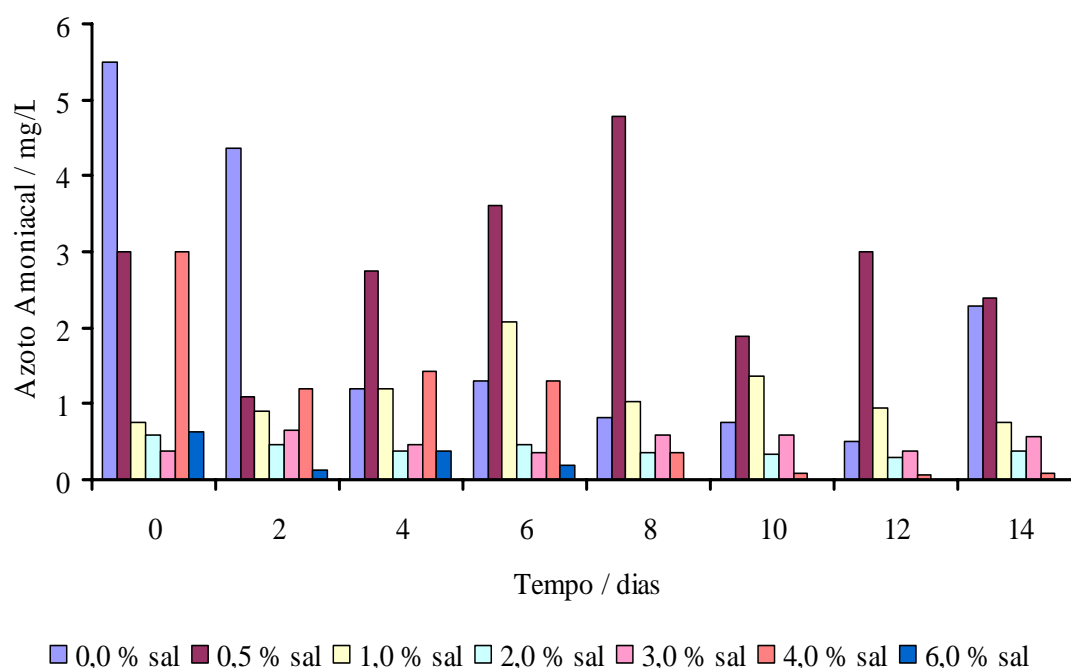


Figura 18. Variação da concentração de azoto amoniacal durante o período de aclimação para cada concentração de sal em estudo.

A partir da observação da Figura 18 é possível verificar o comportamento da remoção biológica de azoto amoniacal do sistema durante a adaptação da biomassa. As elevadas concentrações de azoto amoniacal no início do estudo (para 0,0 %) devem-se possivelmente à recuperação do inóculo após um período de choques realizado anteriormente com elevadas concentrações de fenol. O fenol provocou a desfloculação da biomassa e a respectiva incapacidade de remoção o que se verifica durante os primeiros dias. Contudo, após 2 dias de aclimação ocorre uma diminuição significativa das concentrações no reactor indicando consequentemente a adaptação microbiana ao efluente sintético. Com o aumento da salinidade no sistema, observam-se algumas variações nas concentrações de azoto amoniacal, principalmente para 0,5 % e 1,0 %: após a adição de 0,5 % de sal observam-se oscilações e elevadas concentrações de azoto amoniacal, apontando para dificuldades na adaptação dos microrganismos ao sal, sucedendo a mesma tendência para 1,0 % apesar das concentrações serem inferiores aquelas observadas para a condição inferior de salinidade. Nas restantes concentrações de sal estudadas, os níveis de azoto amoniacal aparentam estabilidade (concentrações baixas e constantes) o que pode anunciar a adaptação microbiana às várias condições experimentais. Efectivamente, a etapa de aclimação do inóculo às diferentes concentrações de sal estudadas apresentou elevada relevância, permitindo a adaptação microbiana aos aumentos sucessivos de NaCl no efluente sintético.

3.2. DESEMPENHO PADRÃO DO SISTEMA

Devido à instabilidade do processo de nitrificação na remoção biológica de nutrientes, considera-se de extrema importância a utilização de uma estratégia que permita a ocorrência de elevadas taxas de remoção do sistema. O teste realizado com o efluente sintético sem qualquer adição de sal pretende demonstrar o perfil da estratégia em estudo bem como as remoções de azoto amoniacal e de *CQO* alcançadas neste sistema biológico.

A Figura 19 evidencia as oscilações nas concentrações de azoto amoniacal e de nitrato num efluente sintético semelhante a um efluente industrial (consultar a composição do efluente no Capítulo 2).

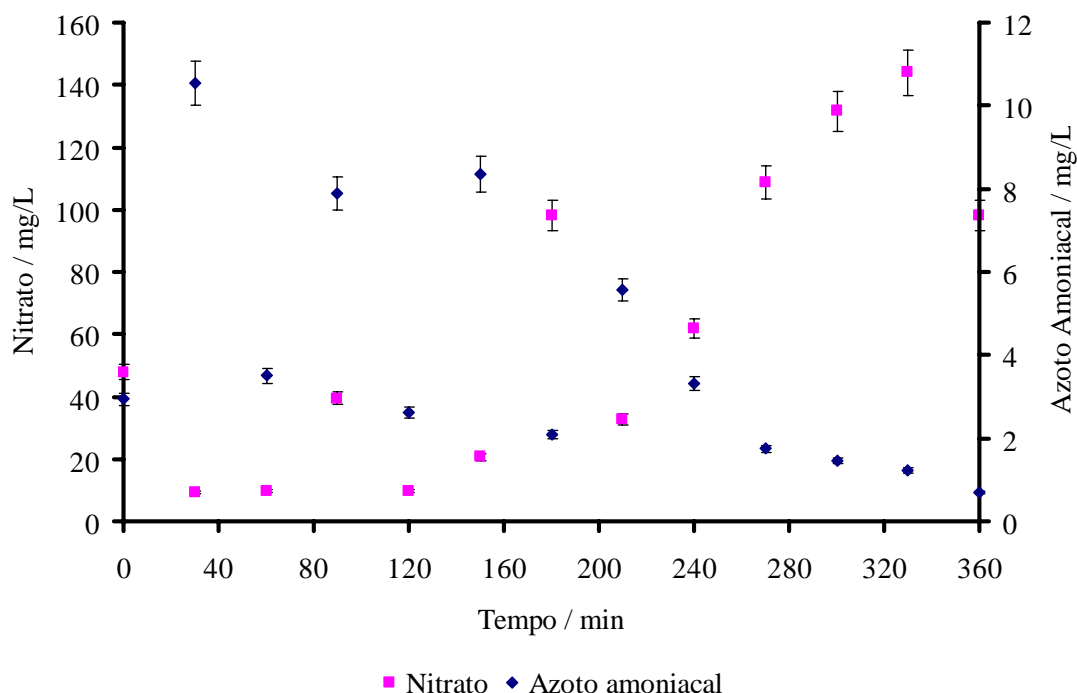


Figura 19. Perfil das concentrações de azoto amoniacal e de nitrato a 0,0 % sal.

O perfil da Figura 19 apresenta a diminuição da concentração de azoto amoniacal e o aumento da concentração de nitrato no reactor ao fim de 6 horas de ensaio sem qualquer interferência no sistema. Estes dados indicam a ocorrência do processo de nitrificação na presença de bactérias *Nitrosomonas* e *Nitrobacter*, já que o ião amónio é oxidado a nitrito na primeira fase e a nitrato na segunda (consultar as reacções de nitrificação na Secção 1.7.7). Assim, no final deste teste para 0,0 % de sal obtém-se uma baixa concentração de ião amónio (praticamente nula perante uma concentração alimentada de 25 mg/L) e uma elevada concentração de nitrato (cerca de 98 mg/L no efluente final) correspondendo a uma conversão estequiométrica de aproximadamente 100 %.

Verifica-se também a oscilação das concentrações de azoto amoniacal nas 3 horas iniciais do teste devido à estratégia pulsante adoptada, ou seja, quando o reactor é submetido ao enchimento, os valores de azoto amoniacal aumentam. No período de interrupção da alimentação, os microrganismos consomem o azoto amoniacal, convertendo-o a nitrato por etapas. No final deste teste padrão pode-se observar a tendência decrescente do azoto amoniacal (consumo) e a tendência crescente de nitrato (formação). Perante estes resultados iniciais conclui-se que a estratégia adoptada neste trabalho exhibe capacidade na obtenção de bons índices de nitrificação.

Perante os resultados de azoto amoniacal, o efluente poderia ser descarregado num curso de água, já que os valores finais são inferiores aos valores máximos admissíveis pela Legislação Ambiental Portuguesa (azoto amoniacal = 10 mg/L). No entanto, a concentração final de nitrato obtida é superior ao valor admissível (nitrato = 10 mg/L) indicando a necessidade de proceder à desnitrificação do efluente ou então ao prolongamento do teste até ao limite estabelecido pela Legislação Nacional.

Para além do estudo das concentrações de azoto amoniacal e de nitrato importa também averiguar a variação de *CQO* e de fosfato para 0,0 % de sal. Os dados apresentados na Figura 20 são também importantes para a compreensão da eficiência do reactor utilizado e da estratégia adoptada.

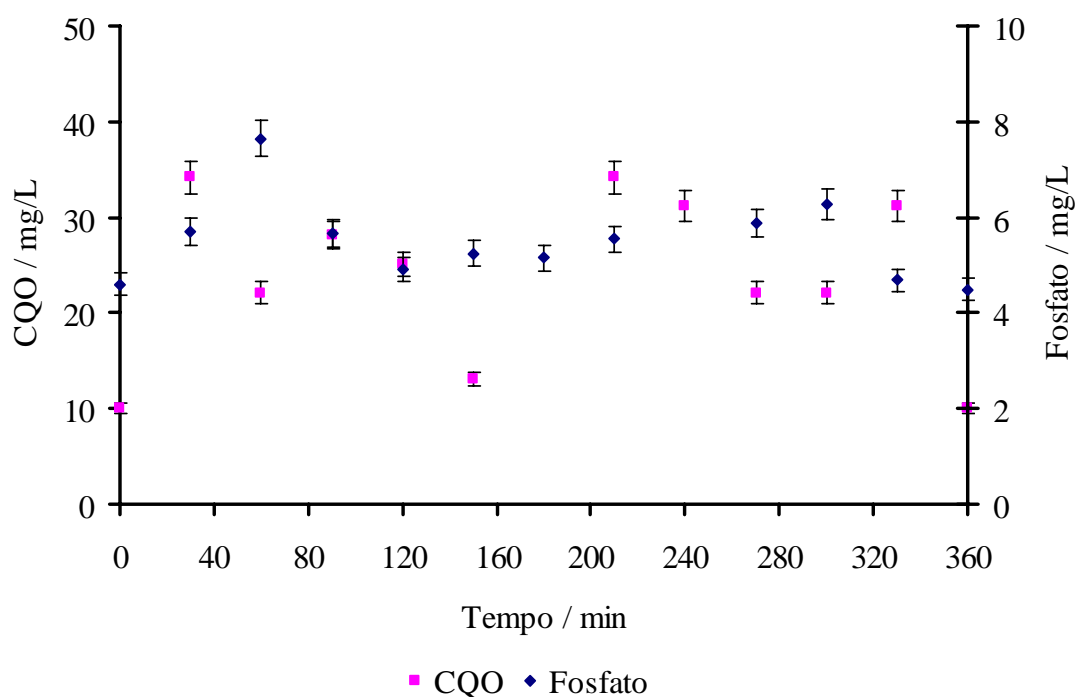


Figura 20. Perfil das concentrações de fosfato e de *CQO* a 0,0 % sal.

Mais uma vez se verifica pela Figura 20 a oscilação nas concentrações de *CQO* e nas concentrações de fosfato no reactor biológico dada a estratégia de alimentação. A *CQO* alimentada ao reactor foi aproximadamente igual a 300 mg/L. Obtendo-se uma concentração final de 10 mg/L de *CQO* é evidente o elevado consumo da matéria orgânica pela comunidade microbiana existente no meio reaccional. Assim, conclui-se que esta estratégia é apropriada para garantir elevados índices de remoção de *CQO* de um efluente sem a presença de qualquer reagente adicional.

Sendo a concentração de fosfato alimentada ao reator de 7 mg/L e obtendo-se no final do teste uma concentração no efluente de 4,5 mg/L, conclui-se que existe uma ligeira tendência de consumo. Sem qualquer interferência de sal no meio reaccional, obtém-se uma baixa remoção de fosfato do efluente indicando que esta estratégia pulsante não se destina à remoção efectiva de fósforo, que neste caso foi analisado sob a forma de fosfato. Contudo, as bactérias aeróbias parecem apresentar alguma capacidade que permita a remoção de fósforo do efluente apesar de não ser muito evidente nesta Figura. Para efectivar a remoção de fósforo do efluente, seria necessária a criação de um ambiente anaeróbio como foi referido no Capítulo 1.

Perante os resultados de *CQO* e de fosfato, o efluente poderia ser descarregado num curso de água, já que os valores finais são inferiores aos valores máximos admissíveis pela Legislação Ambiental Portuguesa (*CQO* = 150 mg/L e fósforo = 10 mg/L).

A Tabela 7 pretende mostrar as percentagens de remoção de todos os compostos analisados quando não existe no processo qualquer interferência salina, bem como o valor de *IVL* que permite o conhecimento do estado de sedimentabilidade da biomassa.

Tabela 7. Percentagens de remoção obtidas sem interferência de sal e sedimentação das lamas.

Percentagem de remoção para 0,0 % sal	
<i>CQO</i>	90,48
Azoto amoniacal	98,30
Nitrato	---
Fosfato	11,22
Sedimentação das lamas / mL/g	
<i>IVL</i>	120

Pela Tabela 7 é possível constatar remoções de *CQO* e de azoto amoniacal superiores a 90 %, indicando a elevada eficiência do *RDS* na remoção de matéria orgânica e de azoto amoniacal. Na ausência do processo de desnitrificação não foi possível aferir sobre a remoção de nitrato do sistema, contudo observa-se a sua formação. Para garantir a presença do processo de desnitrificação no sistema seria necessária a criação de um ambiente anóxico, todavia a estratégia teria de ser alterada o

que poderia significar o aumento do tempo de cada teste. A baixa remoção de fosfato do meio reaccional deve-se à ausência de um ambiente anaeróbio apesar da existência de algum consumo destes compostos pelos microrganismos aeróbios. Finalmente, o valor de *IVL* obtido para 0,0 % de sal no efluente final aponta para uma boa sedimentação das lamas. Também pela observação microscópica foi possível presenciar flocos compactos na ausência de sal. Assim, a floculação da biomassa permite a separação efectiva sólido-líquido no reactor biológico no final do ensaio padrão podendo-se verificar pelo acompanhamento microscópico realizado durante este estudo.

3.3. DESEMPENHO EM CONDIÇÕES SALINAS

Nesta secção, apresentam-se os resultados referentes ao desempenho do sistema perante a interferência do sal. Como foi referido no Capítulo 2, o estudo realizou-se para concentrações de 0,5 % a 6,0 %, ou seja, desde condições salinas até ambientes hipersalinos. Pretendeu-se com esta gama de concentrações verificar o limite do sistema tendo em conta a relação entre os dados cinéticos e os dados relativos à sedimentabilidade das lamas.

Inicialmente são apresentados os valores directamente obtidos do reactor biológico (concentrações de *CQO*, Nitrato e Fosfato). Posteriormente analisam-se as percentagens de remoção comparando-as com as figuras anteriormente discutidas. Finalmente, discutem-se também as propriedades de sedimentabilidade das lamas para cada concentração de sal estudada.

Na Figura 21 apresentam-se os valores de concentração de *CQO* obtidos após 6 horas para todas as concentrações de sal estudadas.

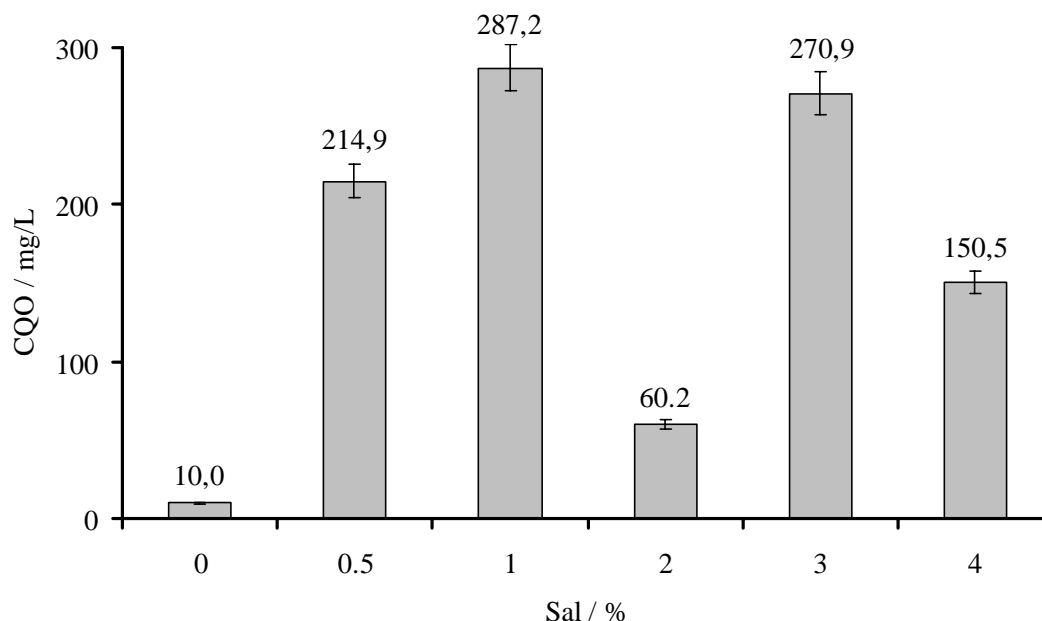


Figura 21. Perfil cinético das concentrações finais de *CQO* para as diferentes concentrações de sal estudadas.

Como a concentração de *CQO* alimentada ao reactor é aproximadamente 300 mg/L, verifica-se pela Figura 21 uma elevada eficiência do *RDS* para 0,0 % de sal já que a concentração de matéria orgânica no efluente final é bastante baixa. Pela análise da Figura 21 juntamente com a Figura 20, observa-se que quando não existem interferências do sal, o sistema remove a matéria orgânica adicionada e a estratégia utilizada para o seu tratamento é adequada uma vez que a concentração final existente no efluente se encontra abaixo do limite permitido na Legislação Ambiental.

Quando se inicia a adição de sal no sistema observa-se um aumento significativo das concentrações finais, atingindo um máximo para 1,0 % de sal, onde neste caso a eficiência de remoção diminui drasticamente. A incapacidade de remoção de matéria orgânica pelos consórcios microbianos pode ser justificada pela obstrução causada pela elevada salinidade (alteração da força iónica do meio reaccional), sofrendo um fenómeno designado por plasmólise celular. A plasmólise é a contracção do volume das células por perda de água. Este fenómeno ocorre quando a célula é colocada num meio hipertónico, ou seja, quando o meio exterior é mais concentrado que o citoplasma e a célula perdem água por osmose.

A partir da adição de 3,0 % de sal, as concentrações apresentam uma tendência decrescente indicando uma nova adaptação microbiana à presença de sal no meio sintético. Esta adaptação é possível quando não são utilizadas adições bruscas de

salinidade ao licor misto como foi anteriormente estudado por Kincannon & Gaudy (1966, 1968). Como os microrganismos são submetidos a processos de adaptação continuados durante o estudo do efeito da salinidade na eficiência do processo biológico, é possível observar a aclimação a determinados ambientes extremos.

O método de determinação de *CQO* (colorimétrico) foi sujeito a algumas interferências. A presença de elevadas concentrações de sal provocou também a precipitação do ião Cl^- com a prata existente na solução digestora. Assim, o precipitado inviabilizou por diversas vezes os resultados de *CQO* obtidos, tendo de se efectuar diluições das amostras e uma prévia separação do precipitado existente. Devido a este facto, o valor referente a 6,0% não é apresentado devido à deficiente concentração de prata que permitisse a precipitação total do cloreto existente nas amostras, assim sendo, mesmo com diluições das amostras não foi possível a determinação correcta da *CQO*.

Observa-se pela mesma Figura a incapacidade de adaptação microbiana à salinidade conduzindo consequentemente a um efluente com concentrações de *CQO* bastante superiores aos valores-limite enumerados na Legislação Ambiental. Assim sendo, para 0,5 %, 1,0 % e 3,0 % de sal, o efluente não poderia ser descarregado num curso de água. No entanto, após o prolongamento do estudo a concentrações mais elevadas de sal, inicia-se um processo de adaptação às condições fornecidas aos microrganismos, podendo-se observar esse facto no resultado obtido para 2,0 % e 4,0 % de sal.

Na Figura 22 apresentam-se as remoções de *CQO* no reactor para as concentrações de sal estudadas. Os percentuais de remoção são relacionados com as concentrações apresentadas na Figura 21.

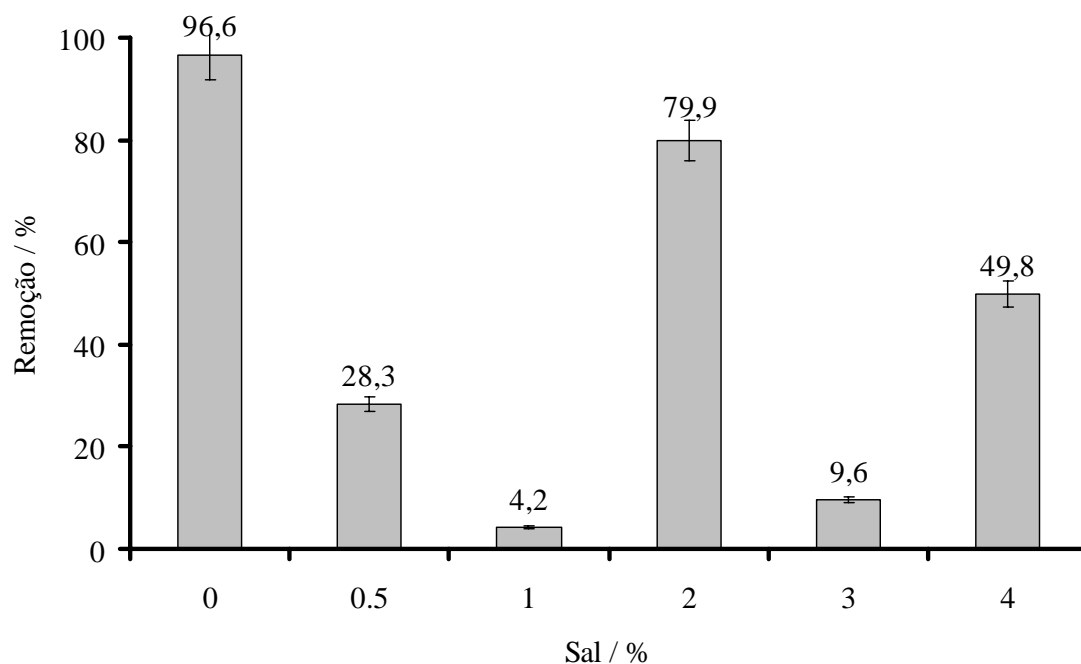


Figura 22. Remoção de *CQO* para as diferentes concentrações de sal estudadas.

Pela Figura 22 observa-se uma diminuição da eficiência de remoção de *CQO* de 96,6 % para 4,0 % com o aumento da concentração de sal de 0,0 % até 1,0 %. Esta redução significativa deve-se possivelmente ao curto período de aclimação da biomassa. No entanto, esta tendência decrescente é concordante com alguns dos resultados já apresentados por Uygur & Kargi (2004), Uygur (2006), Kargi & Dinçer (1998), Kargi & Uygur (1997). As drásticas alterações de força iônica no meio reaccional são também responsáveis pela redução da eficiência de remoção como foi constatado pelos investigadores referidos anteriormente. Quando a concentração salina aumentou para 2,0 %, observa-se uma recuperação significativa da biomassa em remover a *CQO* (cerca de 80,0 %) do efluente. Possivelmente, esta recuperação deveu-se apenas à adição de sal ter sido efectuada gradualmente e não drasticamente.

Perante estes resultados, pode-se verificar que o sal interfere na remoção de carga orgânica, possivelmente devido a fenómenos de plasmólise das células microbianas resultando na perda de actividade metabólica, já que por análise microscópica também se observa a redução dos agregados microbianos. A análise da dimensão dos flocos será efectuada na secção 3.4 deste Capítulo.

Como foi referido nos objectivos deste trabalho, pretendeu-se para além da monitorização do sistema, a optimização da nitrificação. A Figura 23 apresenta a remoção de azoto amoniacal no *RDS*.

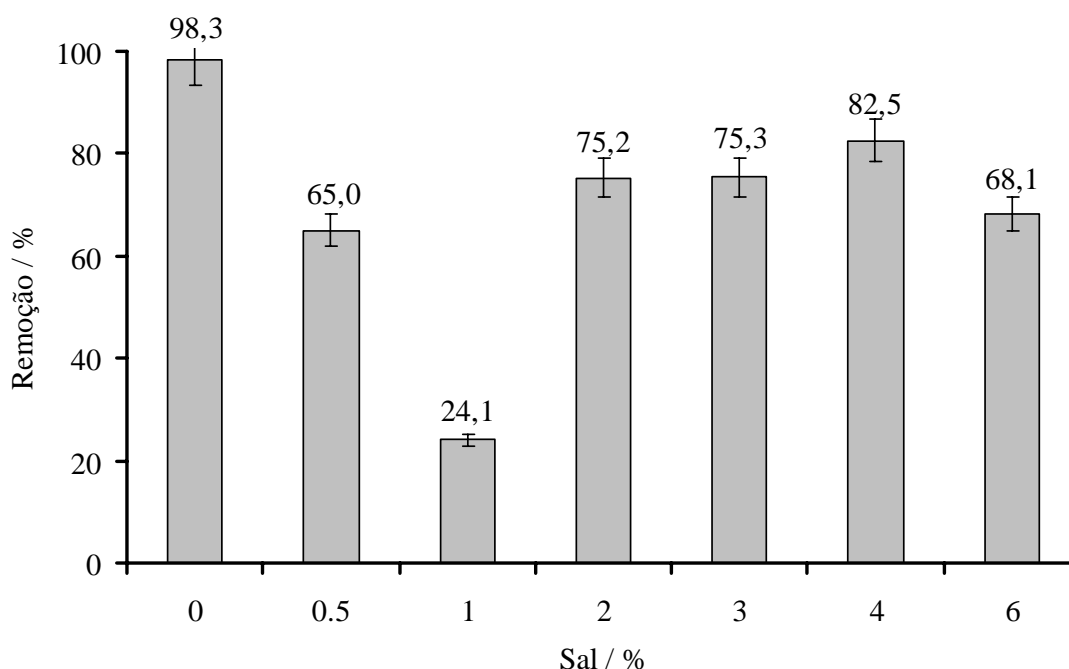


Figura 23. Remoção de azoto amoniacal para as diferentes concentrações de sal estudadas.

Comparando a percentagem de remoção de azoto amoniacal a 0,0 % de sal com a concentração de azoto amoniacal no final do ensaio apresentada na Figura 19, observa-se que a concentração de azoto amoniacal no efluente final é aproximadamente 0 mg/L indicando por isso uma elevada remoção. Porém, para 0,5 % e 1,0 % de sal, verifica-se uma diminuição nos valores de remoção de azoto amoniacal. Como foi referido no Capítulo 2, o inóculo era submetido a períodos de aclimação entre as diferentes concentrações de sal (15 dias), no entanto, estes dados indicam que o tempo de aclimação não foi suficiente para permitir que os microrganismos responsáveis pela oxidação do azoto amoniacal a nitrito realizassem adequadamente o processo, apesar dos valores obtidos no período de aclimação serem indicadores de uma boa remoção. No período de aclimação, as amostras eram recolhidas após 24 horas da adição de nova alimentação, enquanto os testes decorriam durante 6 horas. Assim, conclui-se que para estas duas concentrações de sal, o tempo de processo foi curto para os microrganismos procederem à remoção biológica. A solução, neste caso, passaria pelo alargamento do período de aclimação. Esta conclusão está directamente relacionada

com os dados da Figura 18, onde se observa a variação durante todo o período de aclimação para as concentrações de sal referidas anteriormente.

Acima de 1,0 % de sal, verifica-se que as concentrações salinas não provocam efeitos prejudiciais para as bactérias *Nitrosomonas* (bactérias responsáveis pela conversão do azoto amoniacal a nitrito), obtendo-se elevadas taxas de remoção. Este facto deve-se fundamentalmente à etapa de aclimação dos microrganismos que antecede cada teste realizado. A partir de 2,0 % de sal, observam-se novamente elevados índices de remoção de azoto amoniacal indicando a adaptação e recuperação da actividade microbiana ao sal. Como foi referido no Capítulo 1, o arejamento tumultuoso no interior do reactor pode provocar a volatilização do azoto amoniacal (*stripping*). Porém, esse fenómeno certamente não ocorreu neste trabalho uma vez que o estudo da volatilização já havia sido realizado por Coelho (1998) e as amostras eram analisadas imediatamente após a recolha.

A estratégia utilizada neste trabalho não foi optimizada para a remoção de nitrato do efluente (desnitrificação), uma vez que durante as experiências não eram alcançadas as condições ideais anóxicas. Assim, como apenas se pretendeu a formação de nitrato, apresentam-se os resultados referentes à sua produção durante as experiências realizadas para cada concentração de sal estudada (Figura 24). A análise desta Figura é importante para se conhecer experimentalmente a relação entre a remoção de azoto amoniacal e a produção de nitrato.

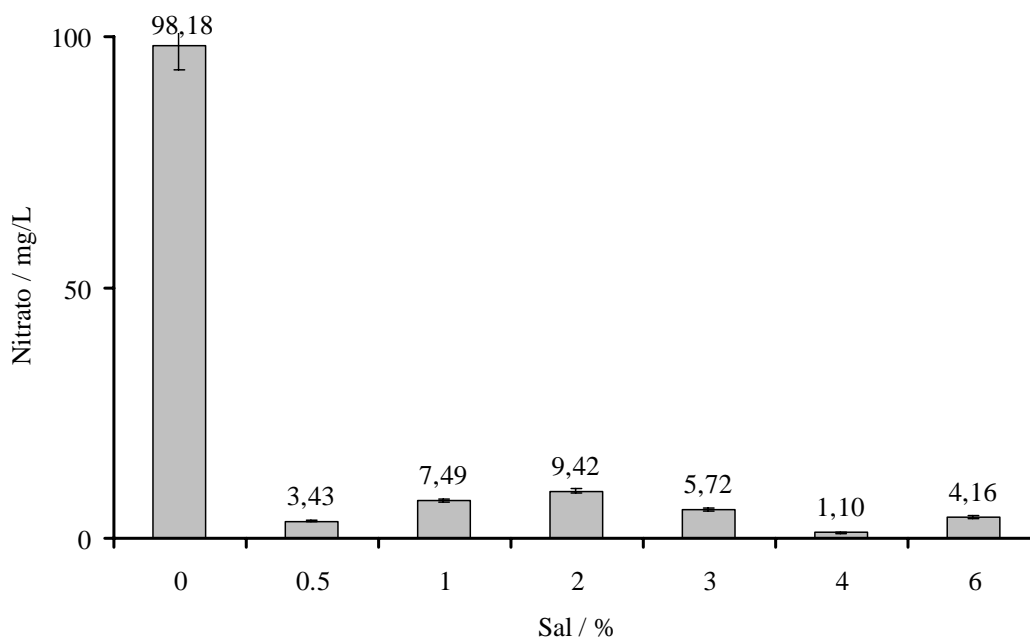


Figura 24. Variação da concentração de Nitrato no final de cada teste para as diferentes concentrações de sal estudadas.

A formação de nitrato constitui a etapa final da nitrificação e exerce um efeito tóxico menor nos corpos receptores do que o nitrito. A concentração de nitrato resulta em primeira instância, das proteínas existentes nos processos de decomposição orgânica podendo surgir também crescimento de algas indesejáveis.

Observa-se pela Figura 24 uma diminuição drástica das concentrações de nitrato obtidas no final de cada teste para as várias concentrações salinas estudadas. Verifica-se que para 0,0 % de sal ocorreu uma conversão de 100 % do azoto amoniacal em nitrato, encontrando-se o valor de acordo com a remoção de azoto amoniacal apresentada na Figura 23. Comparando os resultados de nitrato com os de azoto amoniacal, verifica-se que para 0,5 % e 1,0 % persiste o problema do reduzido tempo de aclimação ao sal. Obtém-se, como na Figura 23, uma baixa concentração de nitrato para 1,0 %. Para 2,0 % de sal observa-se um ligeiro aumento da concentração indicando a adaptação microbiana à salinidade. No entanto, para 3,0 %, 4,0 % e 6,0 % os valores diminuem gradualmente podendo indicar uma inactivação, ou mesmo plasmólise celular das bactérias *Nitrobacter* responsáveis pela transformação do nitrito em nitrato. A partir de 2,0 % de sal, os valores referentes à remoção de azoto amoniacal são elevados, indicando deste modo a eficiência do processo. Contudo, não se visualizam elevadas concentrações de nitrato, podendo indicar a acumulação de nitrito no reactor. Não é possível afirmar a sua presença uma vez que não foram realizados testes às

concentrações de nitrito. A acumulação de nitrito é altamente tóxica para o ambiente aquático. O seu efeito consiste no impedimento da respiração celular. Normalmente, o nitrito é rapidamente consumido pelas bactérias nitrificantes, formando o nitrato (comparativamente não tóxico). Se o processo de oxidação pelas bactérias for inibido, como parece ser o caso, pode ocorrer um aumento desfavorável de concentração de nitritos.

A última avaliação cinética antes da análise de sedimentabilidade das lamas é realizada ao fosfato. Apesar de já ter sido referido o seu acompanhamento, importa abordar a sua evolução no meio reaccional à medida que se aumenta a concentração de sal no efluente. Na Figura 25 apresentam-se os valores referentes ao fosfato no fim do ensaio para cada concentração de sal estudada.

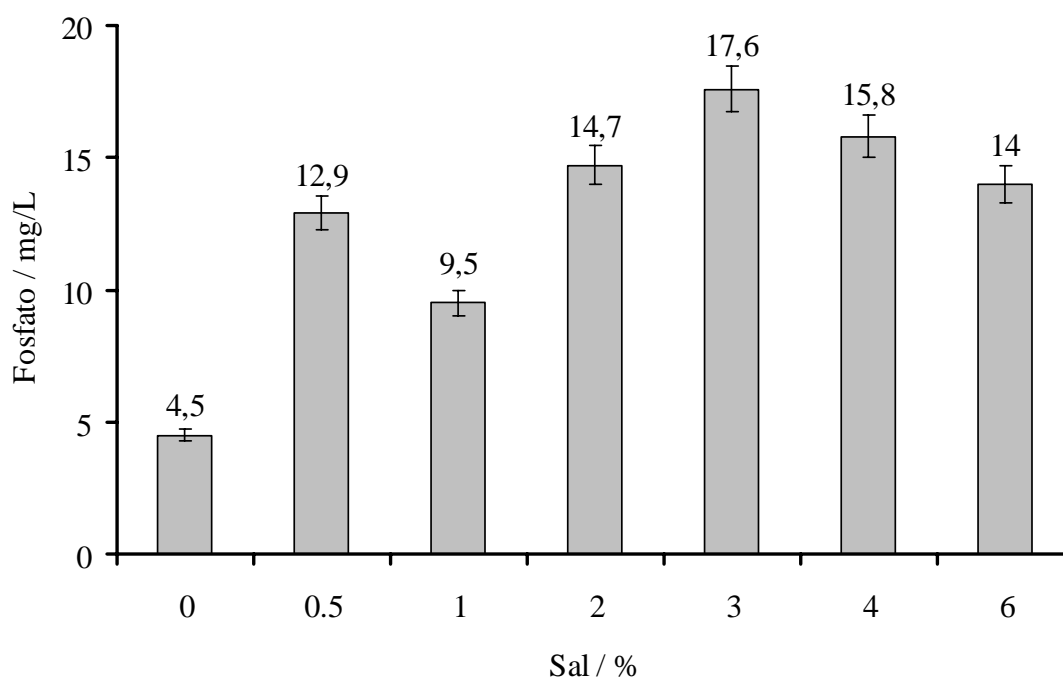


Figura 25. Variação da concentração de fosfato no final de cada teste para as diferentes concentrações de sal estudadas.

Como foi referido na secção 3.1, a concentração de fosfato na alimentação é aproximadamente 7 mg/L ocorrendo uma pequena remoção de fosfato no reactor sem qualquer interferência de sal no meio reaccional. Após a adição de sal, a comunidade microbiana evidencia a influência negativa do sal na remoção biológica de fósforo devido ao aumento das concentrações finais deste constituinte no efluente.

A presença de microrganismos aeróbios permite a remoção de fósforo apesar desta não apresentar expressividade quando comparada com a presença de um ambiente anaeróbio. Contudo, o acompanhamento da concentração de fósforo permitiu observar que até 3,0 % de sal ocorre um aumento desta concentração com o aumento da concentração de sal alimentada ao reator. Este aumento deveu-se possivelmente à plasmólise celular que permitiu a libertação de compostos intracelulares de fósforo. A partir desta concentração ocorre uma ligeira diminuição de fosfato no efluente final o que pode significar a sua utilização na biossíntese microbiana. Estes resultados encontram-se de acordo com os obtidos por Uygur (2006).

Na eficiência de um tratamento biológico comungam dois tipos de abordagens: o estudo da remoção de matéria orgânica e nutrientes e ainda o estudo da sedimentação das lamas. Inicia-se a análise à sedimentabilidade das lamas biológicas que por sua vez são de extrema importância para o processamento de imagem.

A Figura 26 apresenta a variação da turbidez existente no efluente no fim dos testes realizados para as várias concentrações de sal estudadas.

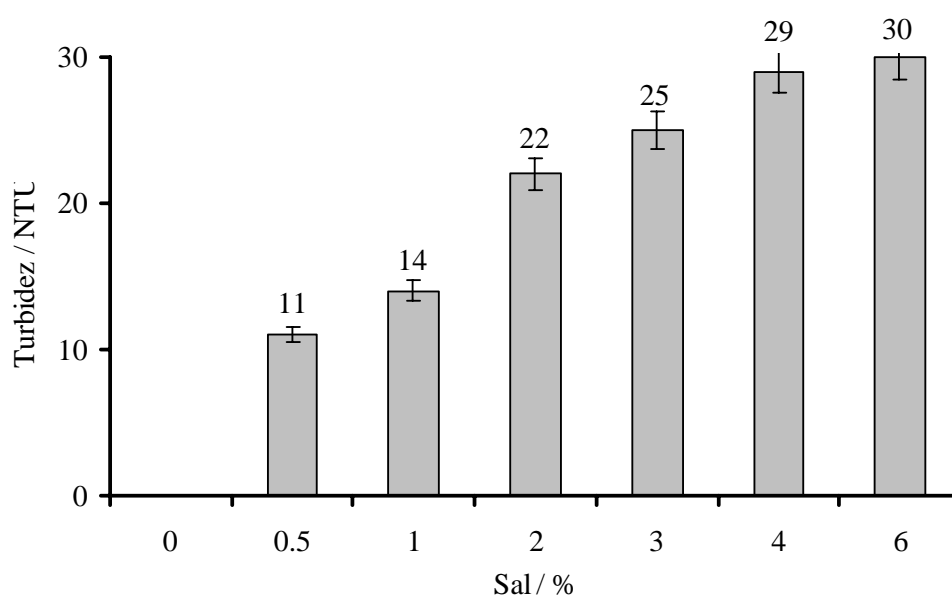


Figura 26. Turbidez observada para as diferentes concentrações de sal estudadas.

A estabilidade dos agregados microbianos existentes em sistemas de lamas activadas é crucial no processo de separação sólido-líquido. A perda de estabilidade conduz à desfloculação, aumentando a turbidez do efluente e consequentemente diminuindo a capacidade de sedimentação. O aumento da turbidez encontra-se

associado a mudanças no arejamento e agitação, temperatura e força iónica, que podem ocorrer no interior do reactor biológico. Efectivamente, a estratégia pulsante conduz a alterações no arejamento do reactor o que pode modificar as características microbianas.

Na Figura 26, observa-se um aumento gradual da turbidez até ao momento que estabiliza (4,0 % e 6,0 % de sal). Estes valores indicam que há uma maior quantidade de sólidos suspensos devido à parcial desfloculação da biomassa existente no reactor pelas adições crescentes de sal. Este fenómeno de desfloculação foi anteriormente estudado por Wilén *et al.* (2000) verificando que o aumento da turbidez se deve à exposição das lamas a consecutivas condições de desfloculação e floculação, causando danos progressivos nos flocos e a acumulação de material não floculado no sistema. Verifica-se igualmente um aumento das partículas de menores dimensões no efluente. Estes resultados podem ser facilmente justificados pela análise de imagem dos flocos microbianos (secção 3.4). Com a ausência de protozoários responsáveis pela captura de bactérias em suspensão no efluente e devido aos efeitos de plasmólise microbiana, aumenta a concentração de sólidos em suspensão no efluente final.

Segundo Ginoris (2006), o estudo contínuo da turbidez durante os 15 dias de aclimação deixa transparecer o seu aumento devido à elevada percentagem de flocos com pequenas dimensões ($< 100 \mu\text{m}$). Assim sendo, apesar da aclimação microbiana ser benéfica para os microrganismos, acaba por não favorecer a formação dos flocos microbianos, pois são incapazes de recuperar a sua forma inicial. A avaliação da turbidez pode ser complementada pelo estudo do *IVL* obtido no final de cada teste realizado. É possível o aumento em simultâneo de agregados com pequenas e grandes dimensões dependendo da hidrofobicidade dos constituintes da matriz polimérica. A Figura 26 apresenta a variação do *IVL* com o aumento da concentração de sal.

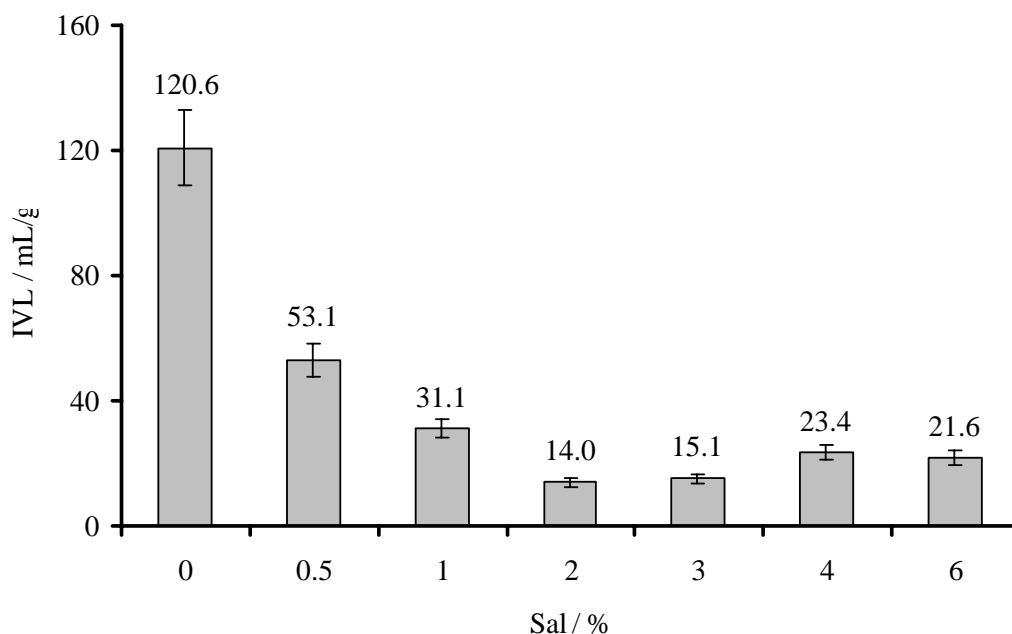


Figura 27. *IVL* observado para as diferentes concentrações de sal estudadas.

A determinação do *IVL* é uma metodologia amplamente adoptada no estudo da sedimentação do licor misto em sistemas de lamas activadas (*RDS*). Este parâmetro indica ao operador o estado de formação e manutenção dos agregados microbianos.

Segundo Uygur & Kargi (2004), o *IVL* aumenta devido à plasmólise causada pelo aumento das concentrações de sal no efluente. Verificaram também a diminuição da concentração de biomassa no reactor com o aumento do sal resultando por isso na baixa capacidade de sedimentação. No entanto, através de outro estudo realizado por Campos *et al.* (2002), o *IVL* não altera significativamente as propriedades físicas dos agregados microbianos durante a realização de estudos com sal, havendo por isso um decréscimo no *IVL* durante o período experimental.

No presente estudo, observa-se pela Figura 27 uma diminuição do *IVL* com o aumento da concentração de sal até 3,0 %, aumentando acima deste valor, o que contraria os resultados obtidos por Uygur & Kargi (2004). Através do processamento de imagem apresentado na secção 3.4 as conclusões de Campos *et al.* (2002) também não se confirmam uma vez que se distinguiram diferentes propriedades físicas dos agregados microbianos com o aumento da salinidade do afluente. Os resultados da Figura 27 poderiam permitir concluir que a biomassa observável pelo teste gravimétrico apresentava uma boa sedimentabilidade. Contudo, pela Figura 26, verifica-se a existência de uma grande quantidade de biomassa suspensa no efluente. Assim, através da definição de Bitton (1994), o fenómeno de *pin-point* conduz a um efluente com baixo

IVL e elevada turbidez. Este fenómeno que pode ocorrer em sistemas de lamas activadas provoca a quebra de agregados para formas mais pequenas, compactas, esféricas mas estruturalmente fracas devido à baixa concentração de bactérias filamentosas existentes no sistema. Contudo, os agregados de estrutura mais alargada sedimentam facilmente enquanto que os mais pequenos não sedimentam.

O *IVL* indicia a capacidade de sedimentação da biomassa microbiana e neste caso os agregados microbianos observáveis de estrutura mais larga existentes no meio reaccional apresentam alguma qualidade de sedimentação. Esta tendência encontra-se de acordo com outros estudos realizados por Moon *et al.* (2002). Estes autores verificaram que durante o período experimental, os microrganismos eram submetidos a longos períodos de aclimação e verificava-se inicialmente uma tendência crescente do *IVL*, mas no final os valores referentes a este parâmetro decresciam. Este decréscimo estava relacionado com o aumento contínuo de biomassa no reactor biológico. Entretanto, no final do estudo, para 10000 mg/L de NaCl, o *IVL* apresentou um valor superior aos anteriores indicando a deterioração das propriedades de sedimentação das lamas. Este facto foi observado através da análise do tamanho dos flocos e das dimensões fractais, onde se verificou uma diminuição de ambos os parâmetros morfológicos.

Perante diversos estudos realizados por Wilén (2000, 2003, 2004), existem vários parâmetros que estão directamente associados à floculação ou desfloculação dos agregados microbianos e que por sua vez interferem nos resultados de *IVL* e de turbidez. A desfloculação pode ser observada com a inibição da actividade microbiana por condições anaeróbias, adição de inibidores metabólicos e ainda a redução da temperatura para valores inferiores a 4 °C. Efectivamente, durante os 15 dias de aclimação da biomassa para adaptação a cada concentração de sal em estudo, as condições de agitação e arejamento do reactor sofreram diversas perturbações, não sendo mantidas as condições ideais de aerobiose no licor misto, submetendo os microrganismos a fenómenos sucessivos de floculação e desfloculação.

Outra forma de analisar a sedimentação das lamas passa pela avaliação da extracção de *EPS*. Como foi referido no Capítulo 1, a matriz de *EPS* participa na formação de agregados microbianos, sendo constituída por polissacarídeos, proteínas, glicoproteínas, ácidos nucleicos e fosfolípidos. Este teste foi efectuado por McSwain *et al.* (2004) constatando que o aumento dos flocos microbianos permite o aumento das proteínas e dos polissacarídeos no meio reaccional, sendo a contribuição proteica maior que os polissacarídeos na extracção de *EPS*. Segundo Wilén *et al.* (2003), as proteínas

contribuem para a hidrofobicidade das lamas activadas resultando na floculação microbiana. Também Ginoris (2006) observou a variação de proteínas e de polissacarídeos perante adições crescentes de fenol no sistema e concluiu que ocorre um aumento da razão entre ambos juntamente com a diminuição do *IVL*. Concluiu que a biomassa era composta por flocos redondos, densos e pequenos com boas propriedades de compactação, o que provocou a diminuição do *IVL*.

Apesar de não terem sido efectuados testes às *EPS*, pela avaliação do *IVL* ao licor misto observa-se a adaptação do sistema após adição de crescentes concentrações de sal já que se observa constância nos valores obtidos para 4,0 % e 6,0 %.

O aumento da concentração de sal no efluente promoveu o aumento da concentração de biomassa no reactor durante o período de testes correspondendo também à diminuição do *IVL* como se pode observar na Figura 28.

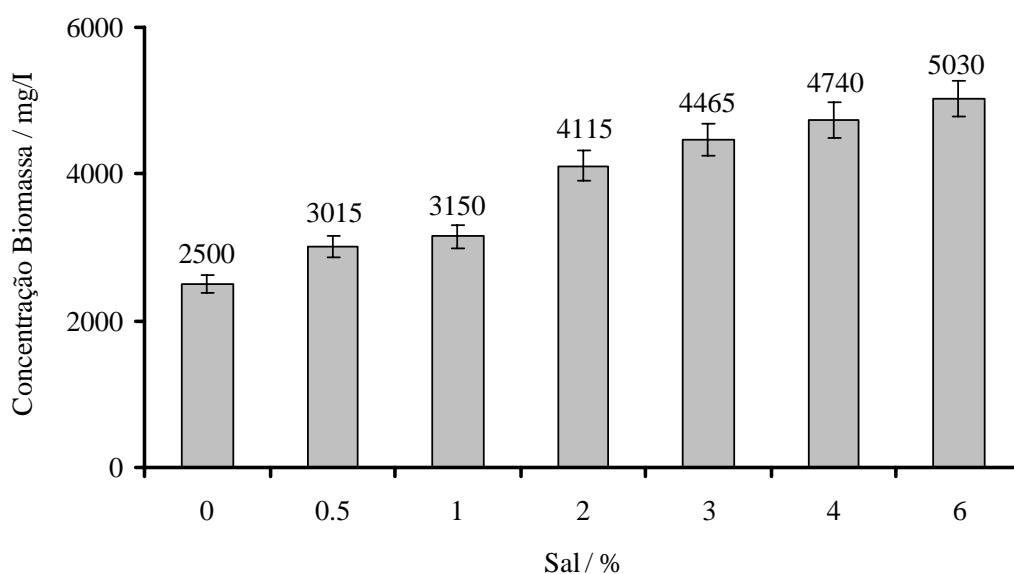


Figura 28. Variação da biomassa com o aumento da concentração de sal no efluente.

Observa-se na Figura 28 que a concentração de biomassa (*SSV*) que se manteve no reactor durante o estudo efectuado, aumentou de 2,5 g/L no início do estudo para 0,0 % de sal até aproximadamente 5,0 g/L no final do trabalho para 6,0 % de sal. Estes resultados são coincidentes com os obtidos por Moon *et al.* (2002) e Hamoda & Al-Attar (1995) sugerindo assim, que no intervalo de concentrações avaliadas, o sal não interferiu significativamente no crescimento microbiano. No entanto, a partir de 2,0 %, a velocidade de crescimento microbiana diminuiu gradualmente com o aumento da

concentração salina alimentada, constatando-se a presença de um efeito inibitório deste composto sobre o crescimento celular. Assim, a partir da adição de 2,0 % de NaCl, considera-se que o sal apresenta um ligeiro efeito inibitório no sistema.

Contudo, devido ao aumento de turbidez e pela análise microscópica é possível observar a existência de uma grande quantidade de biomassa em suspensão no efluente que corresponderá a flocos de menores dimensões, como foi também observado por Ginoris (2006).

Antes de se iniciar a avaliação da morfologia dos agregados microbianos, apresenta-se na Tabela 8 um resumo de alguns estudos efectuados a efluentes salinos por vários investigadores e finalmente efectuar-se-á uma comparação com os resultados obtidos neste estudo em particular.

Tabela 8. Tabela resumo com alguns estudos realizados para efluentes salinos.

Autores	Reactor	% Sal	Microrganismos	Resultados
Kargi & Dincer, 1996, 1997, 1999	Biodiscos	0,0 % - 10 %	50 % de halotolerantes e 50 % de convencionais	0 % - E = 93 % 5 % - E = 85 % 10 % - E = 60 %
Kargi & Dincer, 1995	Batch	1,0 % - 5,0 %	<i>Zooglea ramigera</i>	Diminuição de remoção de CQO
Woolard & Irvine, 1995	RDS	15 %	Bactérias halofílicas	Elevadas remoções de fenol
Uygur & Kargi, 2004	RDS	0,0 % - 6,0 %	Acumuladores fósforo, Nitrificantes, Desnitrificantes	Diminuição de remoção CQO, Azoto amoniacal, Fósforo e aumento do IVL
Uygur, 2005	RDS	0,0 % - 6,0 %	<i>Halobacter</i> livre <i>Halobacter</i> com convencionais	As eficiências de remoção são mais elevadas para os consórcios
Presente estudo	RDS	0,0 % - 6,0 %	Convencionais	Elevadas remoções de Azoto amoniacal, baixas remoções de CQO

Existe uma variabilidade entre os estudos efectuados com efluentes salinos. Conclui-se que os testes realizados com consórcios microbianos convencionais

juntamente com microrganismos halotolerantes são indicadores de elevadas remoções de matéria orgânica e de nutrientes, no entanto o aumento da concentração salina a níveis muito elevados faz com que haja uma diminuição significativa das eficiências devido aos fenómenos de plasmólise que envolvem a comunidade microbiana. No **presente estudo** obtiveram-se excelentes resultados na remoção de azoto amoniacal do efluente apenas utilizando consórcios de microrganismos convencionais estando de acordo com os resultados apresentados por Uygur (2006), porém com uma possível acumulação de nitrito. Já os resultados obtidos na remoção de *CQO* permitem concluir que a sua diminuição se deve à ausência de microrganismos halotolerante e halofílicos, que devido às suas características apresentam uma maior resistência às agressões provocadas pela elevada força iónica do meio reaccional.

3.4. MORFOLOGIA MICROBIANA

A avaliação da morfologia microbiana merece destaque devido à sua importância perante as interferências do sal anteriormente apresentadas pelos parâmetros físico-químicos. Devido aos resultados obtidos para a turbidez e para o *IVL* consegue-se prever uma influência do sal na morfologia dos próprios agregados microbianos. Durante a aquisição das imagens constatou-se uma modificação na estrutura dos agregados que poderá ser confirmada pela análise que se segue.

Apesar de não ter sido realizado qualquer processamento de imagem aos protozoários existentes no licor misto, observou-se efectivamente a diminuição e finalmente a sua eliminação com o aumento da salinidade do efluente, confirmando desta forma os resultados obtidos por Salvadó *et al.* (2001).

Como referido no final do Capítulo 2, as imagens adquiridas ao longo do trabalho foram processadas através de um programa desenvolvido em *IMAGE J*. O processamento das imagens passou por uma série de etapas fundamentais ao período de determinação dos parâmetros morfológicos.

Este processamento serviu de base à análise realizada em *MATLAB* onde foram determinados os parâmetros morfológicos dos agregados microbianos. Estes parâmetros são determinantes na descrição dos flocos microbianos. Foi aplicado o método de *PLS* de forma a relacionar os parâmetros mais significativos com os dados físico-químicos.

Na Figura 29 encontra-se representada uma imagem adquirida de agregados em microscopia e algumas etapas do seu processamento em *IMAGE J*.

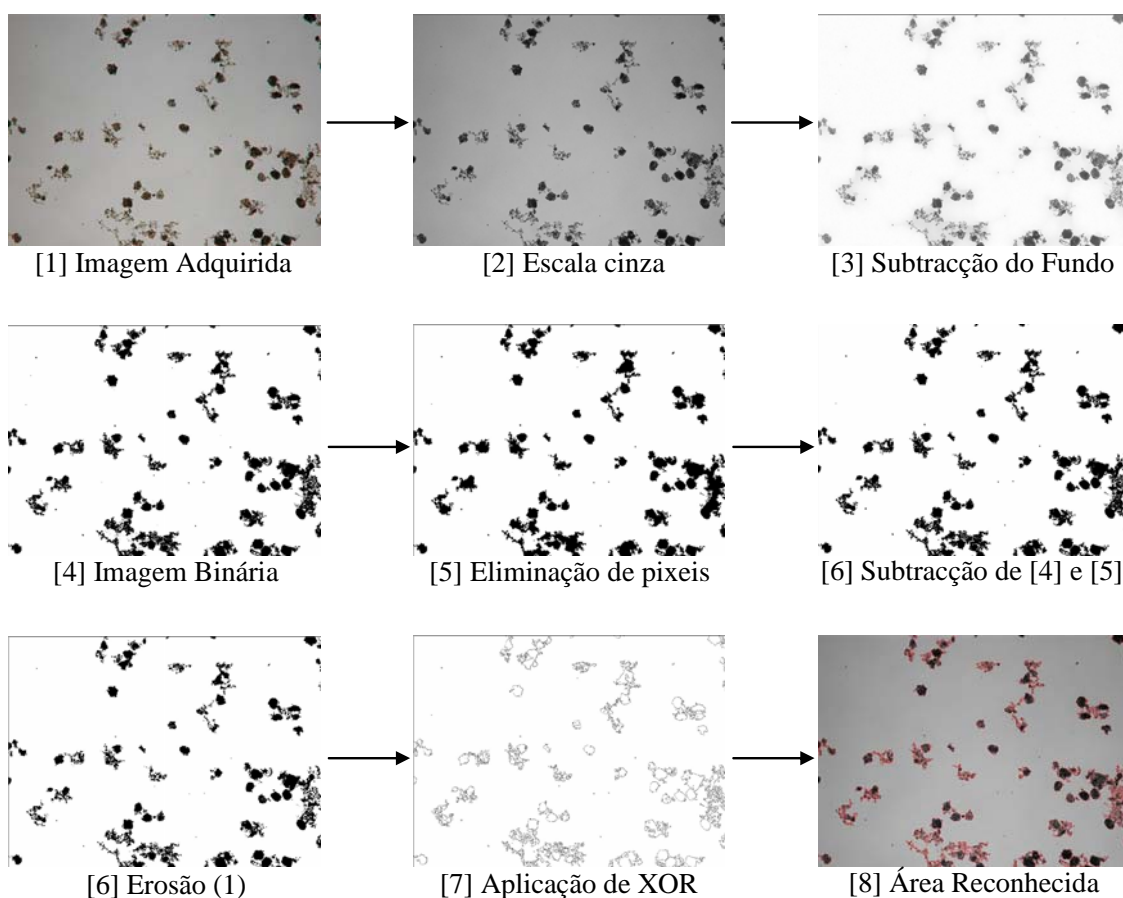


Figura 29. Sequência de imagens obtidas durante o processamento em *IMAGE J*.

O processamento das imagens adquiridas para cada concentração de sal em estudo é realizado de acordo com a descrição existente na secção 2.6.8 do Capítulo 2. A Figura 29 exhibe todos os passos do processamento de imagem no programa *IMAGE J* e verifica-se pela imagem [8] uma elevada área de reconhecimento dos agregados microbianos. Após a aplicação deste programa às imagens correspondentes a cada concentração de sal em estudo, aplicou-se o programa desenvolvido por Amaral (2003) para a determinação dos parâmetros morfológicos.

Inicialmente procede-se à avaliação de dois parâmetros estruturais microbianos facilmente mensuráveis pelo programa desenvolvido por Amaral (2003). A Figura 30 ilustra a variação da Área Total (*AT*) e a Figura 31 ilustra a variação do Diâmetro equivalente médio (*Deq_{médio}*) dos agregados com o aumento da concentração de sal no *RDS*. A *AT* é determinada a partir da área cumulativa de todos os agregados constituintes de cada imagem adquirida para cada concentração de sal em estudo. O *Deq*

é determinado a partir da área projectada (em 2 dimensões) de cada um dos objectos tridimensionais. Estes resultados são comparados com os dados obtidos experimentalmente de turbidez e de *IVL*.

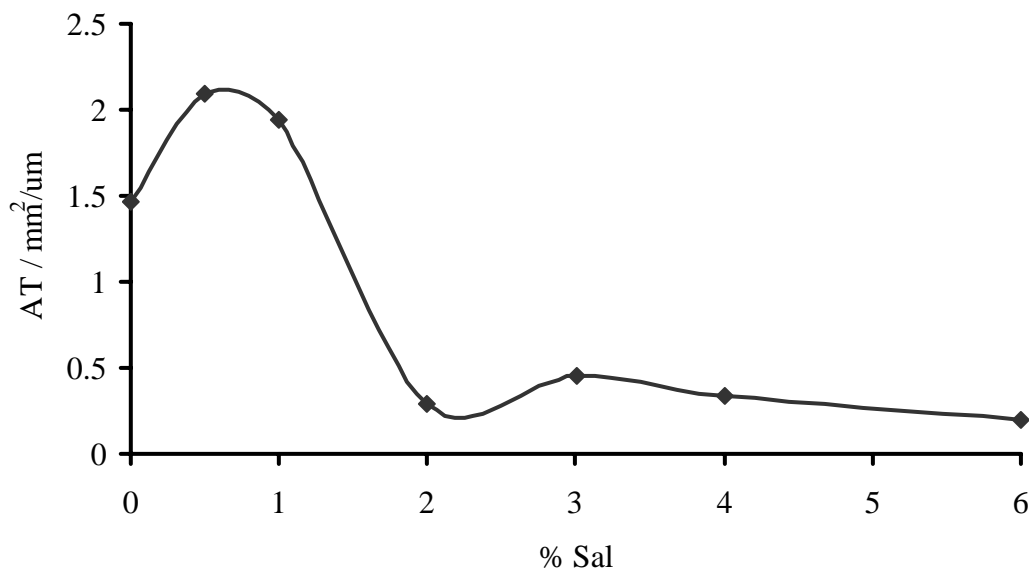


Figura 30. Variação da *AT* dos agregados com o aumento da concentração de sal.

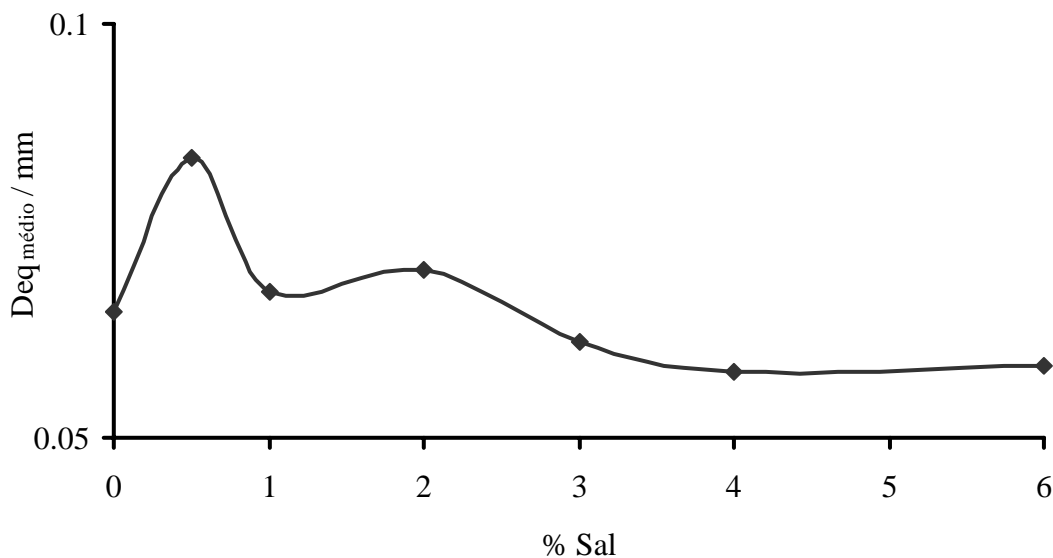


Figura 31. Variação do *Deq_{médio}* dos agregados com o aumento da concentração de sal.

Através da Figura 30 observa-se uma tendência decrescente da *AT*, semelhante à diminuição do *IVL* apresentado na Figura 27 apesar de ocorrer um ligeiro aumento quando a concentração de sal no reactor foi de 0,5 %. O resultado referente ao *Deq_{médio}* (Figura 31) dos flocos também apresenta algumas oscilações durante o estudo realizado,

apesar da tendência decrescente, indicando que o tamanho dos flocos vai diminuindo com o aumento da salinidade. Nesta concentração salina, ocorreram de facto algumas alterações estruturais aos agregados microbianos e de desempenho como foi já referido na secção 3.3 deste Capítulo. A adição de sal ao efluente e o curto período de aclimação teve efeitos nas eficiências de remoção (de nutrientes e de matéria orgânica) e como forma de protecção às mudanças de força iónica do meio terá ocorrido o aumento da *AT* e consequentemente o aumento também do *Deq_{médio}* dos agregados provocado pelo aumento da área dos flocos com maiores dimensões. Observa-se em particular nesta concentração salina um aumento do número de flocos de pequenas dimensões presentes em cada uma das imagens adquiridas, aumentando desta forma a *AT* de agregados. O aumento do *Deq_{médio}* quando a concentração é de 0,5 % e as restantes variações podem dever-se possivelmente à própria desfloculação que torna os flocos menos resistentes e durante a preparação da lâmina para a observação microscópica por análise de imagem acabam por se “achatar” mais, compensando a perda da biomassa da desfloculação (da Motta *et al.*, 2002).

A posterior diminuição da *AT* e do *Deq_{médio}* permite concluir que ocorreu a desfloculação da biomassa, convergindo com os resultados de turbidez (aumento de sólidos suspensos - flocos de pequenas dimensões) e *IVL* (flocos com maiores dimensões apresentam boa sedimentabilidade). Com o aumento da concentração salina, é evidente a menor quantidade de agregados presente nas imagens adquiridas no final de cada teste.

Para a avaliação da variação dos agregados é também importante proceder à análise dos diferentes tamanhos de flocos. Consequentemente agruparam-se os flocos com diferentes classes de *Deq*: diâmetros inferiores a 0,01 mm; 0,01 – 0,1 mm e agregados superiores a 0,1 mm. Desta forma, apresenta-se na Figura 32 a variação com a salinidade do *Deq* dos flocos.

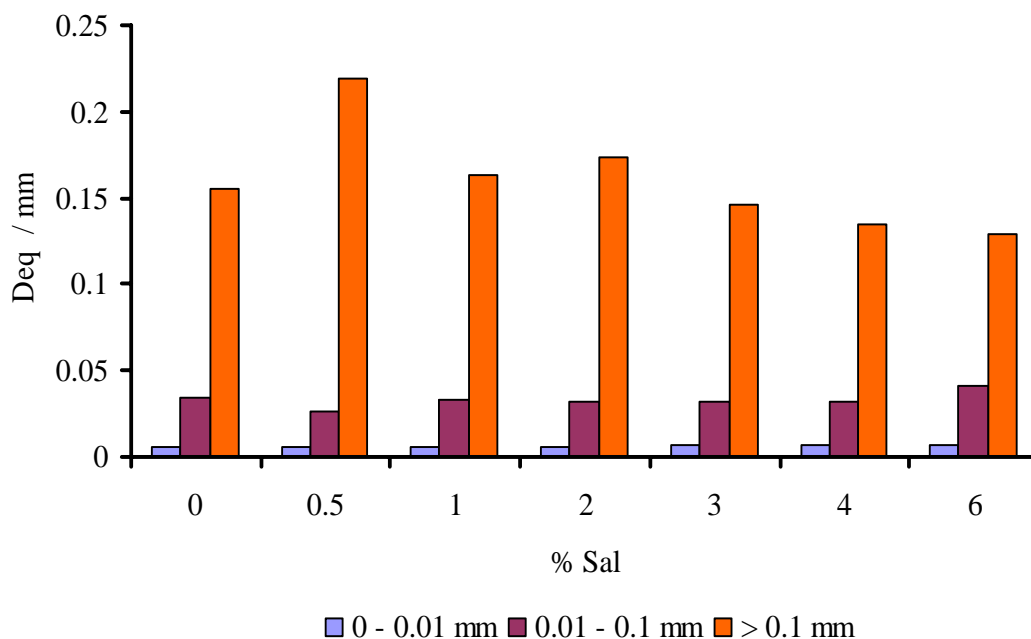


Figura 32. Variação do *Deq* dos agregados com o aumento da concentração de sal.

Pela Figura 32 observa-se que os flocos com pequenas dimensões se mantêm constantes durante o estudo efectuado. Os flocos com *Deq* superior a 0,1 mm diminuem e os flocos com dimensões médias aumentam durante o estudo. Comparando a Figura 32 com a Figura 31, verifica-se que o aumento do *Deq* para 0,5 % sal se deve ao aumento dos flocos com *Deq* superior a 0,1 mm e que a consequente diminuição se deve ao aumento dos flocos de dimensões inferiores (0,01 – 0,1 mm).

Foi também abordado o número de flocos presentes para cada concentração de sal estudada. A evolução da quantidade de cada classe de agregados em termos de número percentual é apresentada na Figura 33.

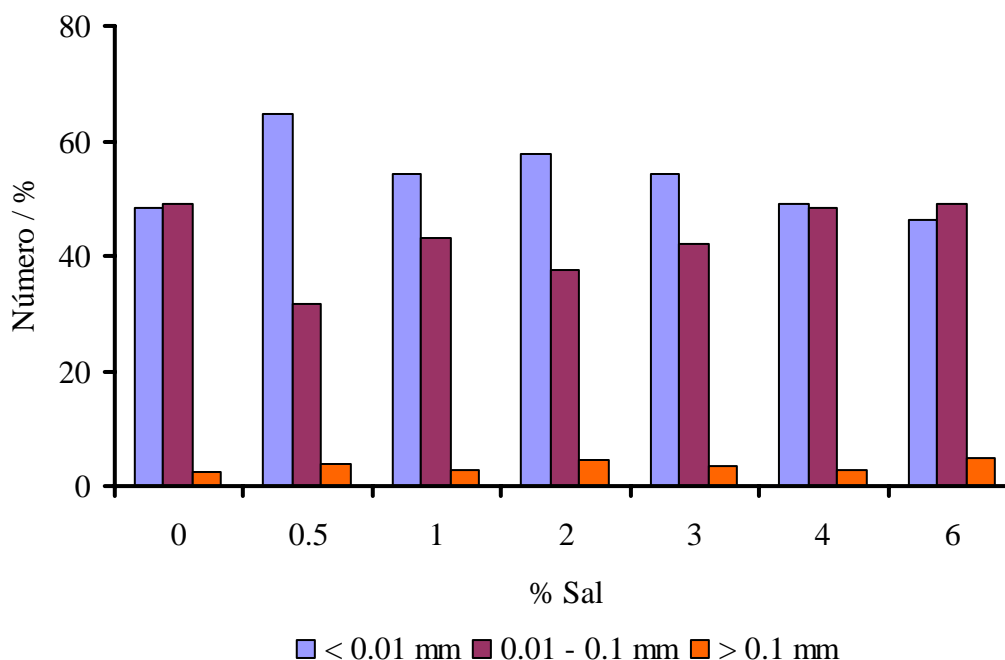


Figura 33. Variação do Número de agregados com o aumento da concentração de sal.

A gama de diâmetros estudados é muito pequena comparada com outros estudos que foram anteriormente realizados com processos aeróbios. Os agregados pequenos são os predominantes durante o estudo realizado. Quando não ocorre qualquer interferência de sal no meio, existe um equilíbrio de flocos muito pequenos e médios enquanto que os de maiores dimensões praticamente não existem. Verifica-se um maior número de flocos com dimensões muito pequenas. Estes decrescem com o incremento da salinidade, havendo consequentemente um aumento dos agregados com dimensões entre 0,01 – 0,1 mm. O aumento desta classe de agregados e da classe de diâmetros inferiores a 0,01 mm pode indicar a presença do fenómeno de *pin-point*.

Contudo, esta análise não reflecte efectivamente a importância de cada tipo de agregados como a distribuição da área percentual. Esta é mais representativa de cada classe e apresenta-se na Figura 34.

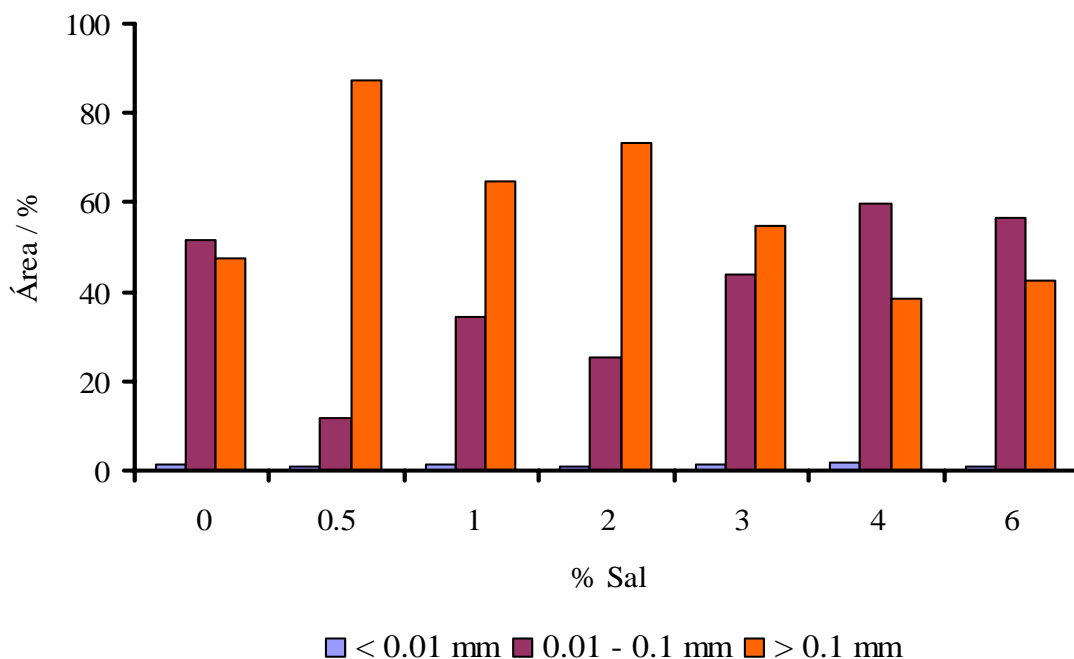


Figura 34. Variação da Área Percentual de agregados com o aumento da concentração de sal.

Os flocos com diâmetros inferiores a 0,01 mm apresentaram durante todo o estudo uma área total de agregados inferior a 5,0 %. Até 3,0 % de sal observa-se que a área total era praticamente ocupada por flocos de dimensões superiores a 0,1 mm. A partir desta concentração verifica-se uma predominância dos agregados de médias dimensões. Contudo, a diferença entre os flocos de dimensões médias e superiores a 0,1 mm não é muito grande no final do estudo o que pode indicar que a diminuição do *IVL* se deve à presença de flocos com dimensões superiores a 0,1 mm de elevada densidade. O aumento da turbidez durante este estudo deve-se ao aumento da área ocupada por flocos com dimensões compreendidas entre 0,01 – 0,1 mm (cerca de 60 % no final).

A turbidez sendo determinada por leitura de absorvância permite uma avaliação dos flocos em suspensão. Conclui-se desta forma que o aumento da turbidez é provocado pelo aumento dos flocos de diâmetro entre 0,01 – 0,1 mm com características de flocos *pin-point* que apresentam por isso uma menor densidade. A diminuição do *IVL* é avaliada pelos agregados com dimensões superiores a 0,1 mm, com elevadas capacidades de sedimentação e que estão presentes durante todo o estudo realizado apesar de se encontrarem em menor número, mas ocupando uma maior área nas imagens. Na determinação do *IVL*, como é utilizado um método gravimétrico os flocos de pequenas dimensões não são tão evidentes.

Com o objectivo de compreender as alterações morfológicas durante as adições crescentes de sal no reactor biológico, foram avaliados os parâmetros relacionados com a estrutura dos flocos bem como os que se encontram relacionados com a morfologia dos agregados. Desta forma, seria possível seleccionar quais os parâmetros que exercem uma maior influência nos agregados. Assim, a Figura 35 apresenta relações entre alguns parâmetros estruturais e morfológicos.

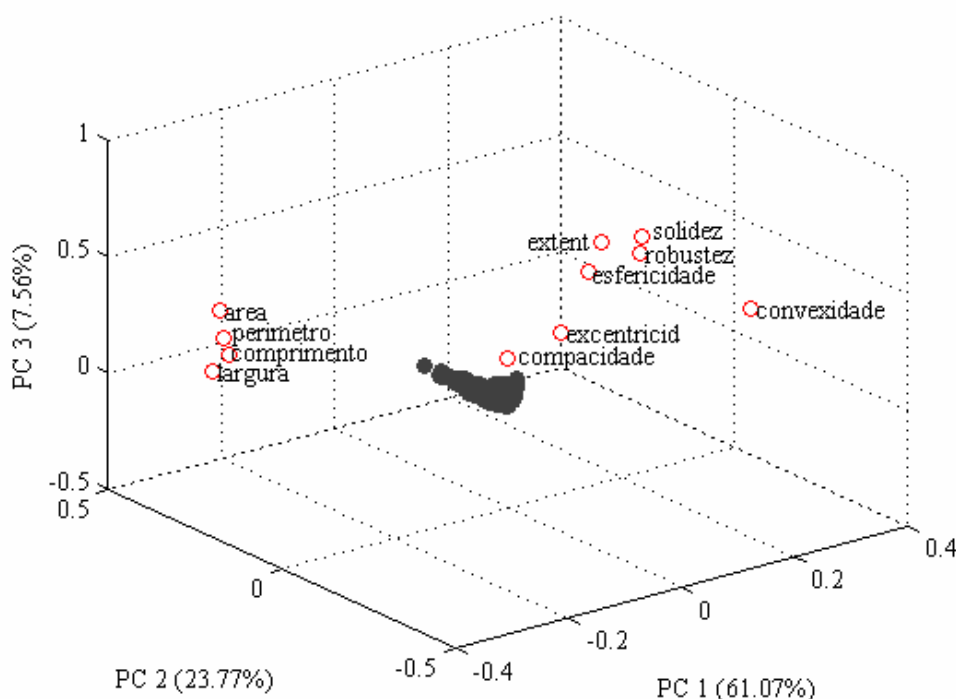


Figura 35. Análise de Componentes Principais aos parâmetros determinados.

As variáveis apresentadas na Figura 35 mostram que algumas são similares (uma vez que algumas delas se encontram bastante próximas). Observa-se que os parâmetros área, perímetro, comprimento e largura poderão ser resumidos apenas a um parâmetro já que pela *PCA* a localização é aproximadamente igual e influencia positivamente no segundo componente principal. A **convexidade** e a **excentricidade** apresentam influências diferentes uma vez que uma delas é positiva e a outra é negativa. A **compacidade** também poderá ser automaticamente seleccionada para uma posterior avaliação uma vez que não se encontra associada a nenhum outro parâmetro. Os restantes parâmetros morfológicos são extremamente importantes para os flocos por apresentarem um peso positivo no primeiro componente principal mas poderá ser seleccionado apenas um deles devido à sua proximidade.

A determinação do número de componentes principais está relacionada com a correlação dos dados. Assim, quanto mais elevada a variância entre os vários dados, melhor será essa correlação. Neste caso a Figura 35 apresenta-se sob a forma tridimensional já que foram utilizados 3 componentes principais para que a variância fosse superior a 90 %. Esta avaliação permitiu concluir que todos os parâmetros relacionados com a estrutura dos agregados bem como os parâmetros morfológicos apresentam uma forte relação com os flocos, apesar da convexidade, compacidade e excentricidade serem parâmetros com influência diferente dos restantes.

Os parâmetros seleccionados anteriormente são importantes na avaliação dos flocos microbianos e devem ser correlacionados com os parâmetros físico-químicos determinados experimentalmente. Os parâmetros clássicos mais relevantes para a análise de imagem são aqueles que se relacionam directamente com a sedimentabilidade. Assim, efectuou-se o estudo particular do *IVL* e da turbidez, parâmetros físicos que podem ser correlacionados com os parâmetros morfológicos.

Os parâmetros de natureza estrutural e morfológica que se encontram agrupados por observação da Figura 35 são submetidos a uma nova avaliação desta vez recorrendo a métodos de estatística multivariável (*PLS*) que permita averiguar quais os parâmetros mais importantes. A Tabela 9 apresenta os resultados referentes a cada grupo de variáveis associadas por *PCA* usando como variáveis *Y* a Turbidez e o *IVL*.

Tabela 9. Variáveis de maior importância para o *IVL* e para a turbidez usando os parâmetros chave de cada grupo determinado por *PCA*.

<i>IVL</i> e Turbidez	
Diâmetro Equivalente	1.0962
Comprimento	1.0595
Largura	1.0452
Perímetro	0.7638
Robustez	1.3535
Solidez	0.8857
Extensão	0.6752
Esfericidade	0.9632

Destaca-se a selecção da robustez e do diâmetro equivalente como parâmetros de maior relevância na previsão do *IVL* e da Turbidez. Estes dois parâmetros vão ser

associados à convexidade, excentricidade e à compacidade para uma última avaliação por estatística multivariável.

De forma a compreender as alterações dos agregados durante o estudo, foi também realizada uma análise morfológica aos parâmetros seleccionados anteriormente (compacidade, excentricidade, convexidade e robustez) para cada uma das classes (Figura 37, Figura 38, Figura 39 e Figura 40). A Figura 36 apresenta a variação média de cada um dos parâmetros referidos anteriormente.

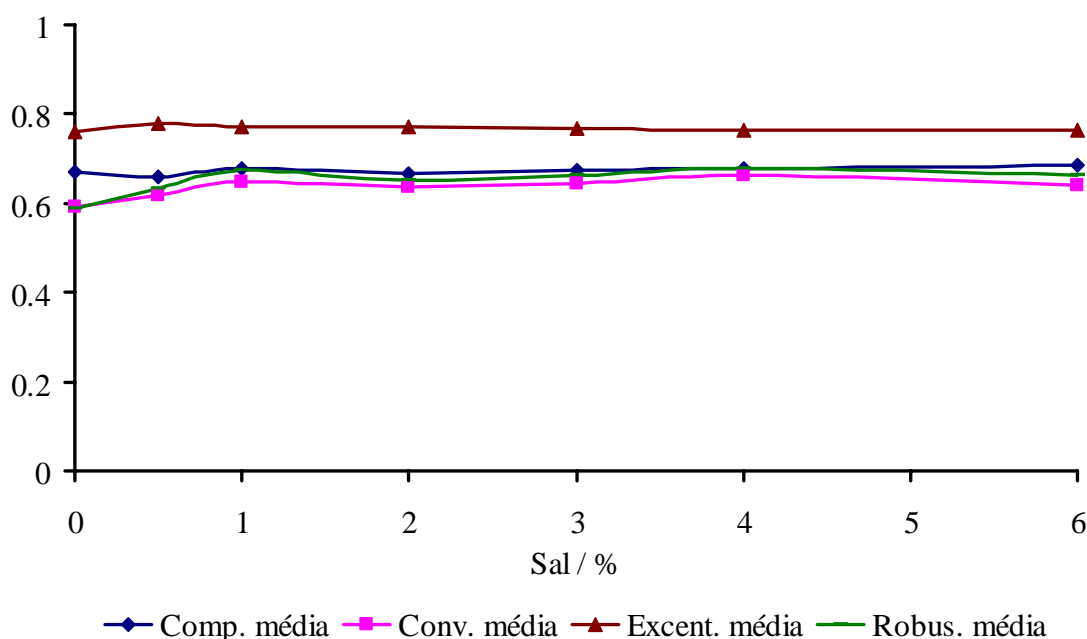


Figura 36. Variação dos parâmetros morfológicos com a concentração de sal.

Os valores dos parâmetros analisados encontram-se entre 0,6 e 0,8 indicando que existe uma organização compacta e regular dos flocos. A distribuição da convexidade para cada concentração salina em estudo encontra-se numa gama de valores que apontam para uma elevada consistência dos flocos em estudo. Perante os resultados obtidos por Amaral (2003) para os macroflocos (grânulos anaeróbios) foi possível concluir uma elevada semelhança com a estrutura dos microflocos deste estudo, demonstrando desta forma a elevada densidade e consequentemente a facilidade na sedimentação. No entanto torna-se essencial a avaliação de cada um dos parâmetros morfológicos individualmente para cada classe de agregados em estudo. Provavelmente os resultados da Figura 36 devem-se à elevada percentagem em número dos agregados mais pequenos ($< 0,01$ mm).

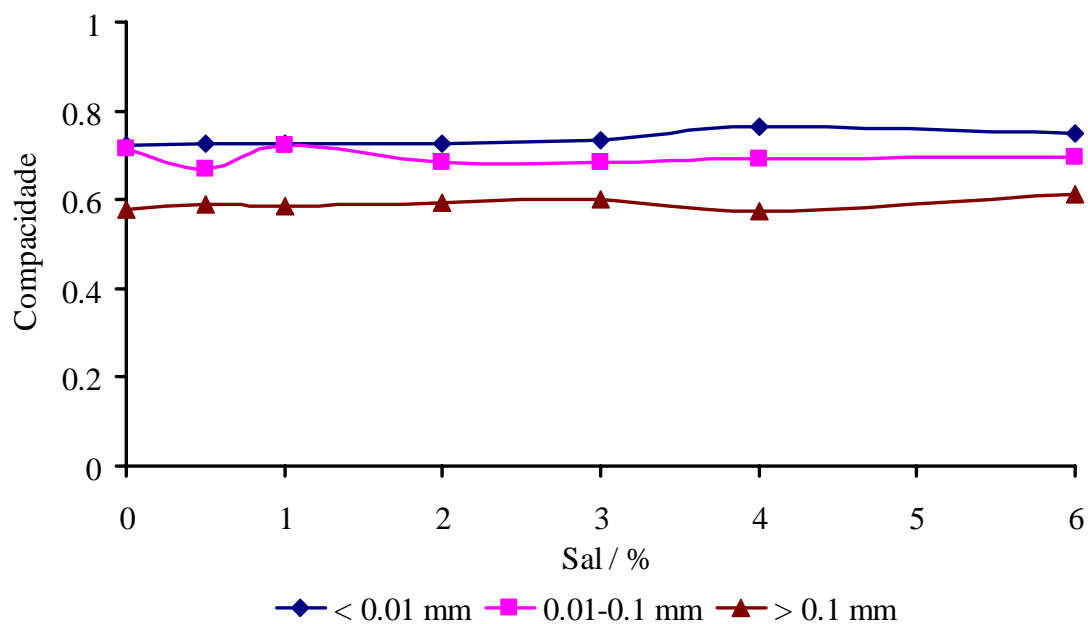


Figura 37. Variação da compactação dos agregados com o aumento da concentração de sal.

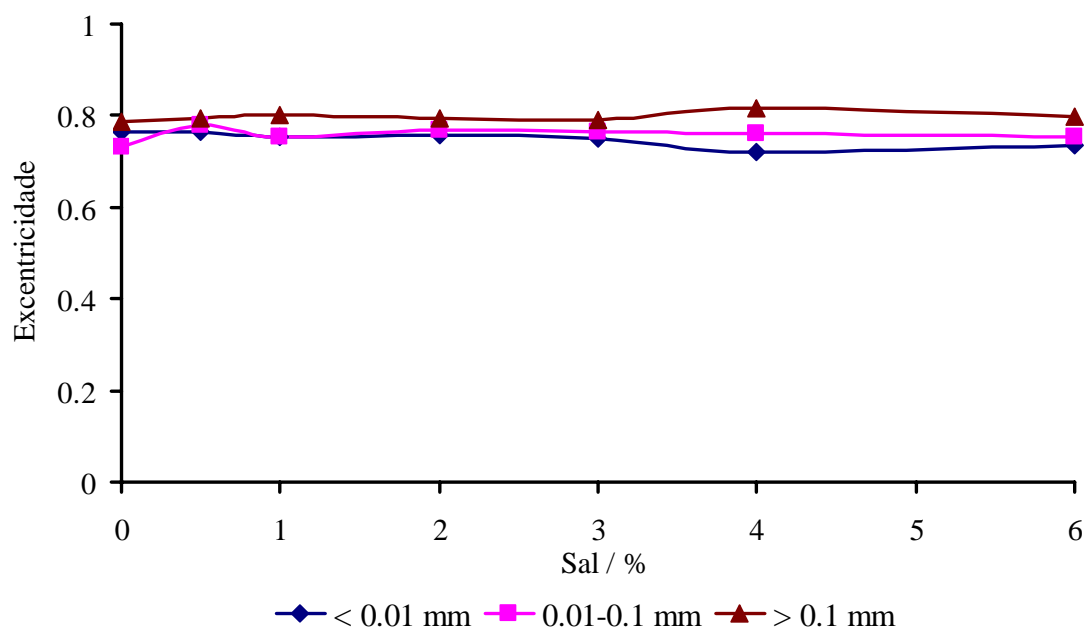


Figura 38. Variação da excentricidade dos agregados com o aumento da concentração de sal.

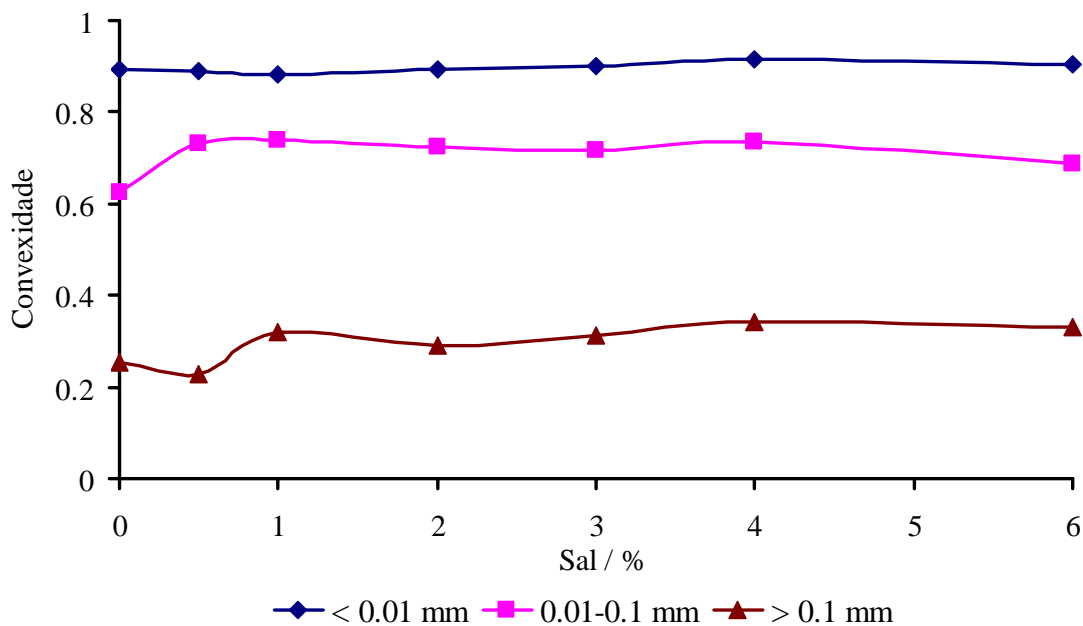


Figura 39. Variação da convexidade dos agregados com o aumento da concentração de sal.

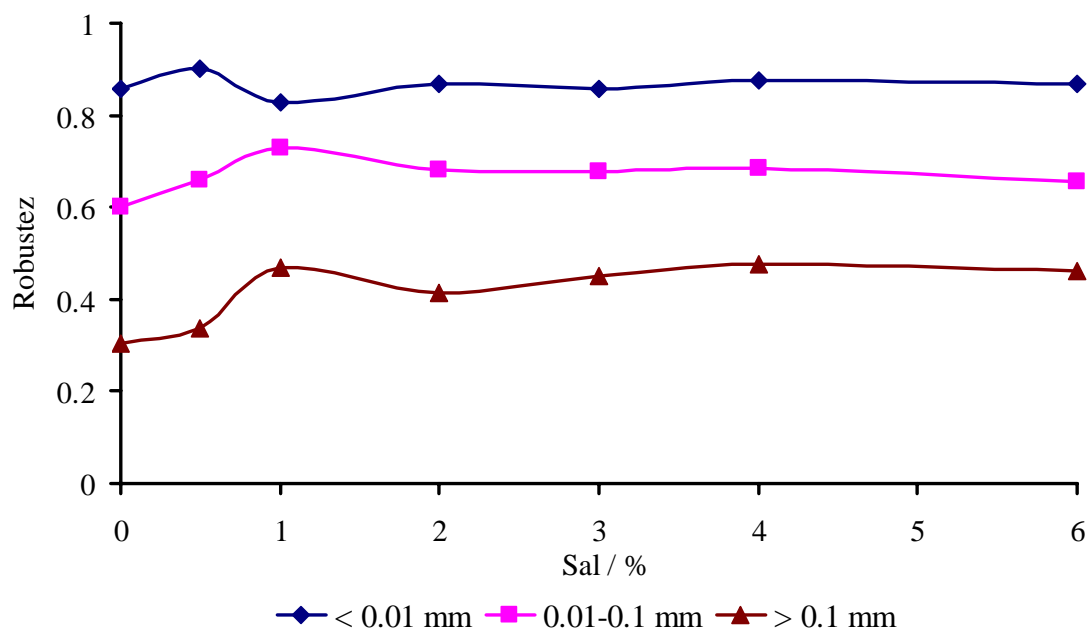


Figura 40. Variação da robustez dos agregados com o aumento da concentração de sal.

Cada classe de tamanhos apresenta diferentes valores de cada um dos parâmetros morfológicos. Os agregados de maiores dimensões (> 0.1 mm) apresentam uma baixa compactidade (0,6) o que indica a presença de uma estrutura quebrada e frágil. Apesar de todas as classes de agregados apresentarem uma excentricidade semelhante, representando estruturas alongadas, a classe de dimensão superior a 0,1 mm exibe

valores ligeiramente superiores. A convexidade atinge valores de 0,9 para os agregados de menores dimensões o que indica uma estrutura regular, bastante diferente da irregularidade dos agregados com dimensões superiores a 0,1 mm devido aos valores se encontrarem entre 0,2 e 0,5.

Os agregados com dimensões intermédias (0,01 a 0,1 mm) apresentam uma morfologia semelhante ao que era esperado para flocos *pin-point*, ou seja, flocos compactos com valores de robustez de 0,7 e menos alongados devido aos valores de excentricidade e de compacidade se encontrarem entre 0,75 e 0,7, respectivamente.

A avaliação dos agregados de dimensões mais pequenas ($< 0,01$ mm) torna-se mais difícil devido à menor quantidade de píxeis que os representam, embora pareçam ser compactos (robustez em torno de 0,9), extremidades lisas (convexidade em torno de 0,9) embora ligeiramente alongados (excentricidade em torno de 0,75 e compacidade em torno de 0,6).

A análise dos parâmetros morfológicos mais significativos (convexidade, compacidade, robustez e excentricidade) não exibiu qualquer mudança significativa para as classes de agregados estudadas. Uma vez mais pode-se inferir que o processo de desfloculação da biomassa em bactérias dispersas não resultou em mudanças significativas em termos de morfologia de agregados como tinha ocorrido na distribuição por classes dos agregados.

Torna-se necessário recorrer a métodos de estatística multivariável que permitam indagar sobre os parâmetros mais importantes para a determinação do *IVL* e da turbidez. As variáveis *X* foram seleccionadas antecipadamente pela apreciação por *PCA* e os grupos de variáveis sofreram também uma abordagem por *PLS* de forma a verificar quais os parâmetros mais importantes na determinação do *IVL* e da turbidez.

A análise por *PLS* para o *IVL* e para a turbidez envolveu os aspectos estruturais (área total dos agregados e diâmetro equivalente) e os aspectos morfológicos (convexidade, robustez, excentricidade e compacidade).

A Figura 41 apresenta as variáveis de maior importância para a determinação do *IVL*, enquanto que a Figura 43 apresenta as variáveis de maior importância para a determinação da turbidez. Estas Figuras foram obtidas através da aplicação do método de *PLS* existente no *software* SIMCA-P 8.0. Os valores *VIP* reflectem a importância dos termos no modelo ambos respeitantes à matriz *Y*, isto é ao *IVL* e/ou turbidez. Os valores

VIP são determinados a partir de todas as variáveis. As variáveis que apresentam um valor *VIP* superior a 1 traduzem maior relevância na matriz *Y*.

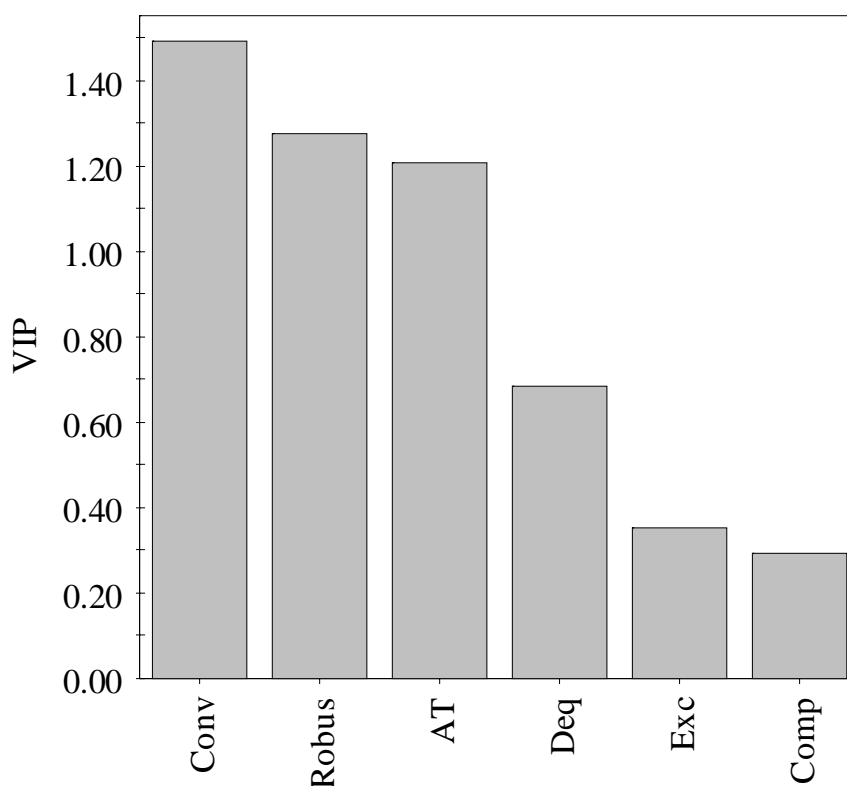


Figura 41. Parâmetros *VIP* na análise por *PLS* do conteúdo de agregados microbianos para o *IVL*.

Os parâmetros que apresentaram maior relevância para o *IVL* foram a convexidade, robustez e a área total dos agregados uma vez que estas variáveis apresentaram um valor *VIP* superior a 1. Foram usadas 3 variáveis latentes no estudo do *IVL* uma vez que o aumento de variáveis latentes não mostrou nenhuma melhoria significativa. A partir destes dados é possível determinar os valores de *IVL* previstos pelo método dos mínimos parciais. O coeficiente de correlação alcançado usando estes dados para prever o *IVL* encontra-se representado na Figura 42.

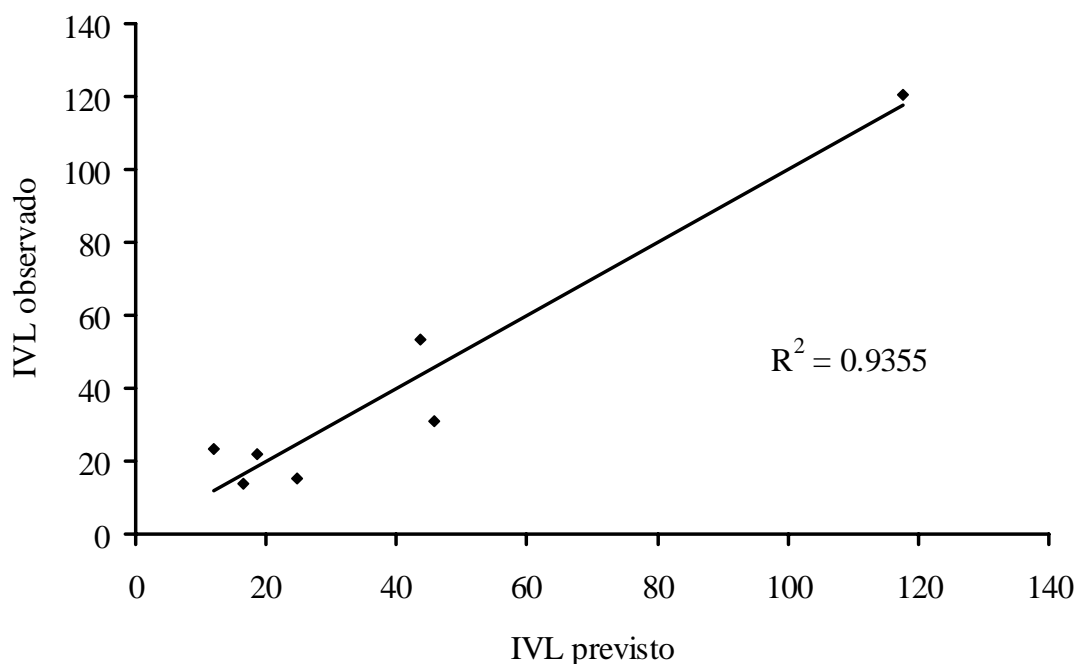


Figura 42. Regressão linear entre o *IVL* determinado experimentalmente (*IVL* observado) e o *IVL* previsto.

Foi alcançado um valor para o coeficiente de correlação de 0,935 entre os valores observados e previstos de *IVL*. Entretanto, observa-se pela Figura 42 uma forte dependência entre o coeficiente de correlação e o valor mais elevado de *IVL* que representa o estado inicial do sistema sem qualquer adição de sal. Quando este valor foi removido, o coeficiente de correlação diminuiu drasticamente para 0,545, assim poder-se-ia concluir que a avaliação de *IVL* não pode ser determinada baseando-se unicamente na estrutura e morfologia dos agregados. Assim, e dado o facto de que o *IVL* depende dos sólidos suspensos totais (*TSS*), e consequentemente da biomassa dispersa, este resultado era esperado no presente estudo devido ao elevado conteúdo de biomassa dispersa.

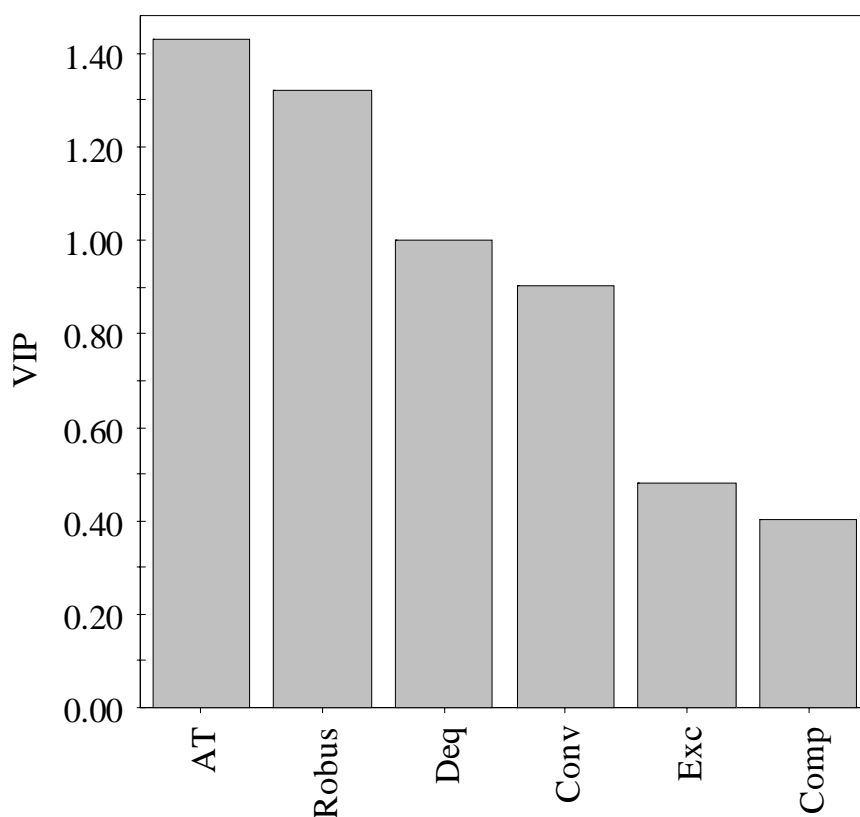


Figura 43. Parâmetros *VIP* na análise por *PLS* do conteúdo de agregados microbianos para a turbidez.

Os parâmetros que apresentaram maior relevância para a turbidez foram a área total dos agregados e a robustez uma vez que estas variáveis apresentaram um valor *VIP* superior a 1. Neste caso também foram usadas 3 variáveis latentes já que o aumento de variáveis latentes não mostrou nenhuma melhoria significativa. A partir destes dados é possível determinar os valores de turbidez previstos pelo método dos mínimos parciais. O coeficiente de correlação alcançado usando estes dados para prever a turbidez encontra-se representado na Figura 44.

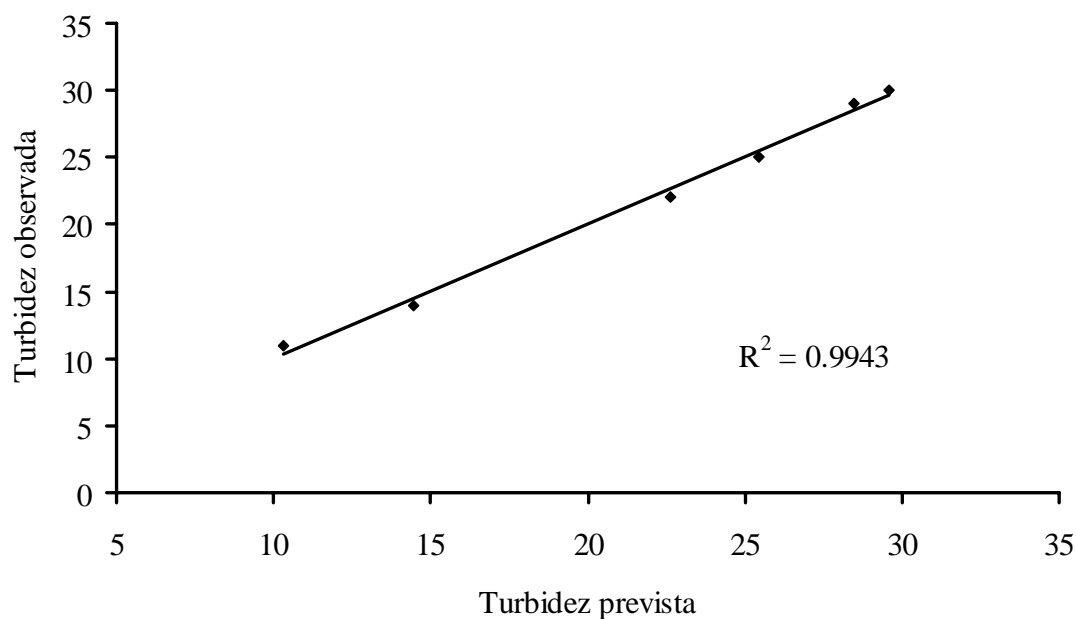


Figura 44. Regressão linear entre a turbidez determinada experimentalmente (Turbidez observada) e a turbidez prevista.

Pela Figura 44 é possível observar um elevado coeficiente de correlação (0,994) entre a turbidez observada e a turbidez prevista pela aplicação do método dos mínimos quadrados parciais. Apesar do resultado ser satisfatório, esta avaliação requer algum cuidado devido ao elevado conteúdo de bactérias em suspensão no sistema biológico. De facto, embora seja verdade que as percentagens em número e área (Figura 33 e Figura 34, respectivamente) dos flocos *pin-point* aumentem, a área total de agregados diminui gradualmente, sendo assim, o conteúdo de flocos *pin-point* também diminui. A Figura 45 pretende mostrar a relação entre a turbidez e a área total dos agregados microbianos.

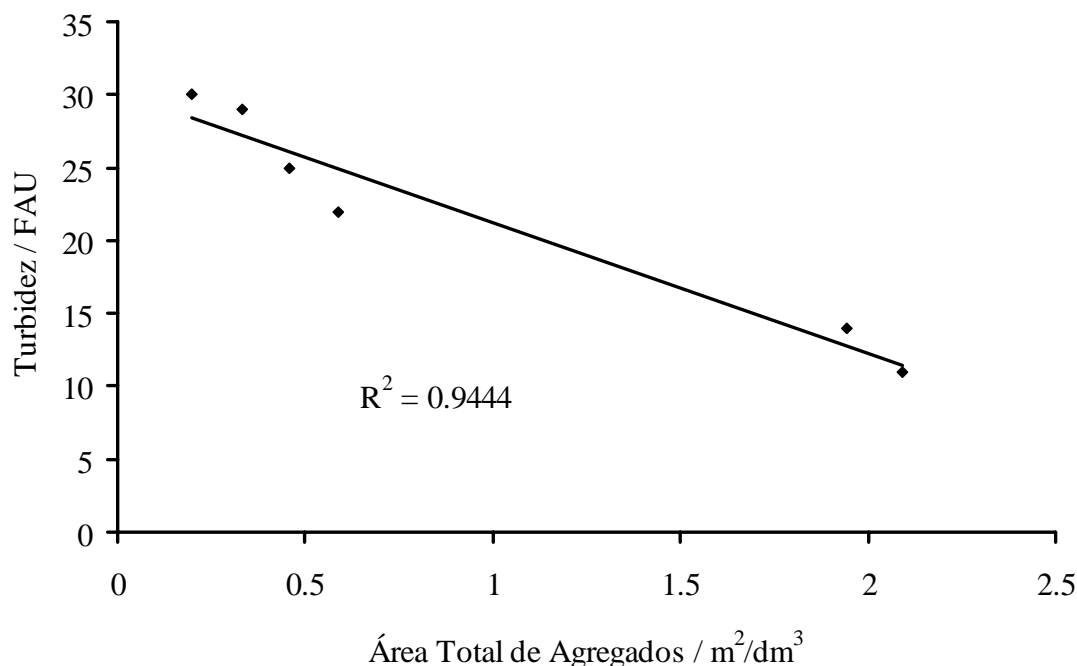


Figura 45. Regressão linear entre a turbidez e a área total de agregados.

O aumento da turbidez com a crescente adição de sal depende fortemente do aumento de bactérias dispersas no reactor. Quando a turbidez é correlacionada directamente com a área total dos agregados (Figura 45) é possível observar uma relação inversa entre ambos e um coeficiente de correlação de 0,944. Provavelmente esta relação representa apenas a conversão da biomassa por desfloculação para bactérias dispersas, uma vez que a redução da turbidez com o aumento do conteúdo em agregados não é possível.

Finalmente, o estudo da relação entre a turbidez e os sólidos suspensos voláteis (SSV) que correspondem à concentração de biomassa encontra-se representado na Figura 46.

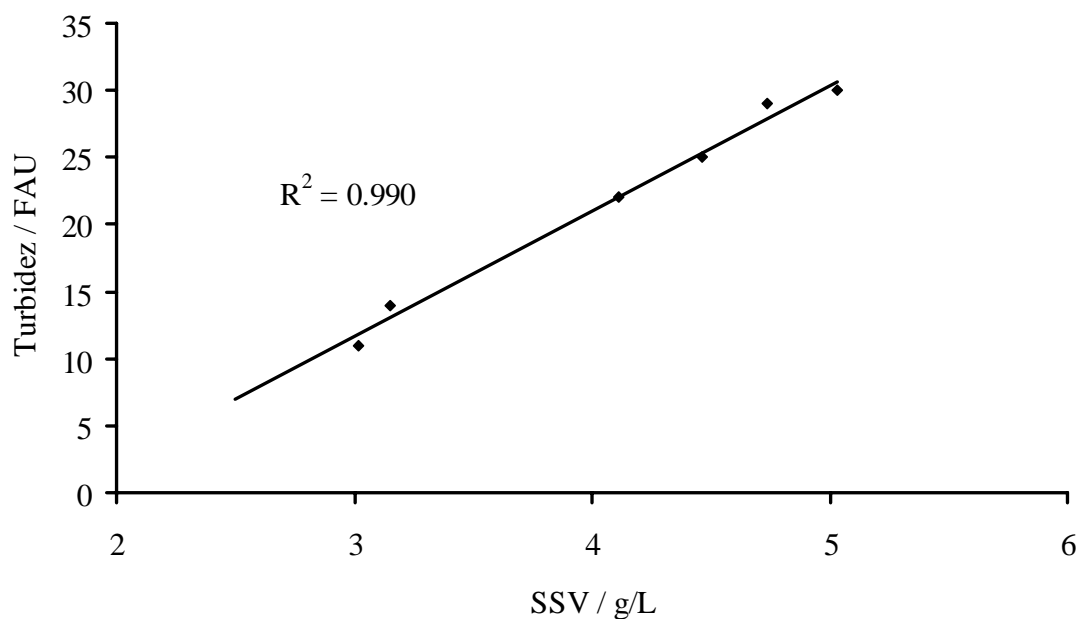


Figura 46. Regressão linear entre a turbidez determinada experimentalmente e a concentração de biomassa.

O coeficiente de correlação de 0,990 significa que a turbidez é correlacionada com os SSV do sistema indicando que o aumento de biomassa, nomeadamente as bactérias dispersas, é causador deste fenómeno (aumento da turbidez). Como há uma forte dependência da turbidez avaliada em termos de bactérias dispersas, nenhuma aplicação de estatística multivariável por análise dos mínimos quadrados parciais pode ser completamente de confiança baseando o estudo unicamente nas características estruturais e morfológicas dos agregados microbianos.

4. CONCLUSÕES

O tratamento de um efluente sintético salino foi realizado usando um *RDS*. Adoptou-se uma estratégia por pulsos simétricos para a alimentação e para o arejamento que permitiu obter bons índices de remoção de azoto amoniacal, comprovando a finalidade da estratégia (nitrificação de efluentes).

Este trabalho permitiu concluir que o processo de aclimação é de extrema importância para os microrganismos de forma a não promover choques de carga e a consequente perda dos catalisadores biológicos do reactor. Verificou-se que a perturbação inicial (0,5 % NaCl) indicou a necessidade do prolongamento da fase de aclimação devido às elevadas concentrações de azoto amoniacal obtidas.

Obtiveram-se percentagens de remoção de azoto amoniacal entre 98 % (para 0,0 % sal) e 24 % (para 1,0 % sal). Esta baixa remoção alcançada deve-se fundamentalmente ao curto período de adaptação microbiana.

As percentagens de remoção de *CQO* situaram-se entre 90 % (para 0,0 % sal) e 27 % (para 4,0 % sal) que comprovam vários estudos realizados por Uygur & Kargi (2004), Uygur (2005), Kargi & Dinçer (1998), Kargi & Uygur (1997). A diminuição da remoção de *CQO* deve-se possivelmente aos vários factores que sensibilizam os consórcios microbianos nomeadamente a sensibilidade para mudanças de força iónica que provoca a plasmólise celular e a inactivação microbiana.

O acompanhamento do nitrato indicou a possibilidade do azoto amoniacal ser apenas oxidado a nitrito, enquanto que a concentração de fosfato foi aumentando no reactor devido também a fenómenos de plasmólise como foi comprovado por Uygur (2006).

Para se efectuar a abordagem à sedimentabilidade das lamas é necessário ter em conta tanto os valores de *IVL* como os de turbidez. Com o aumento da salinidade o *IVL* diminuiu podendo indicar uma elevada sedimentabilidade, no entanto a turbidez aumentou. Assim, conclui-se através deste trabalho que não é possível relacionar a sedimentabilidade de lamas apenas com o *IVL*.

Para as elevadas concentrações de sal o sistema sofreu perturbações devido a variações de força iónica que causaram a desfloculação da biomassa em bactérias dispersas que pode ser confirmada pela elevada turbidez e pelos baixos valores de *IVL*.

Devido à relação directa entre a concentração de biomassa e a turbidez conclui-se que existe uma maior quantidade de sólidos em suspensão devido à parcial desfloculação da biomassa. Estes resultados sustentam também os resultados obtidos no processamento de imagem, onde a presença de flocos de pequenas dimensões (*pin-point*) aumenta com a perturbação salina.

Apesar de não ter sido realizado qualquer processamento de imagem aos protozoários existentes no licor misto, observou-se a diminuição e finalmente a sua eliminação com o aumento da salinidade do efluente, confirmando desta forma os resultados obtidos por Salvadó *et al.* (2001). Mais uma vez se confirma também o aumento da turbidez na presença de muitas bactérias dispersas.

A análise dos mínimos quadrados parciais não permitiu obter previsões dos valores de *IVL* nem de turbidez baseando apenas o estudo nos dados referentes à morfologia da biomassa agregada, devido ao elevado conteúdo de bactérias dispersas nas lamas.

5. REFERÊNCIAS

- Abreu, A. (2004). Identificação de Bactérias Filamentosas em Processos de Lamas Activadas através da Técnica de Hibridização in-situ de Fluorescência (FISH). Tese de Mestrado, UM/DEB, Braga, Portugal.
- Abu-ghararah, Z.H., Sherrard, J.H. (1993). Biological nutrient removal in high salinity wastewater. *J. Environ. Sci. Health* 28: 599-613.
- Amaral, A.L. (1998). Desenvolvimento de técnicas de análise de imagem de para aplicação em processos biotecnológicos. Tese de Mestrado, UM/DEB, Braga, Portugal.
- Amaral, A.L. Ferreira, E.C. (2005). Activated sludge monitoring of a wastewater treatment plant using image analysis and partial least squares regression. *Analytic Chimica Acta*, 544: 246-253.
- Amaral, A.L. (2003). Image analysis in Biotechnological processes: applications to wastewater treatment. Tese de Doutoramento, UM/DEB, Braga, Portugal.
- Amaral, A.L., Baptiste, C., Pons, M.N., Nicolau, A., Lima, N., Ferreira, E.C., Mota M., Vivier H. (1999). Semi-Automated Recognition of Protozoa by Image Analysis. *Biotechnology Techniques* 13: 111-118.
- Amaral, A.L., Rodrigues, S., Mota, M., Ferreira, E.C. (2002). Morphological Characterisation of Biosolids in Wastewater Treatment using Partial Least Squares. *Proceedings of the 2nd IASTED International Conference on Visualization, Imaging and Image Processing*, 300-305, Málaga, 2002.
- APHA, AWWA, WPCF (1989). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, American Public Health Association, Washington, DC.
- Bitton G. (1994). *Wastewater Microbiology*, Wiley-Liss, New York.
- Campos, J.L., Mosquera, A., Sánchez, M., Méndez, M., Lema, J.M. (2002). Nitrification in saline wastewater with high ammonia concentration in an activated sludge unit. *Water Research* 36: 2555-2560.
- Castro, A.B. (2003). Remoção Biológica de Nitrogênio em Efluentes da Indústria Alimentícia utilizando Reactor Batelada Sequencial (RBS). Tese de Mestrado, UFRJ/IQ, Rio de Janeiro, Brasil.

- Coelho, M.A.Z. (1998). Modelagem e otimização do processo de nitrificação de efluentes em Reator Batelada Sequencial. Tese de Doutorado, COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, Brasil.
- Coelho, M.A.Z., Russo, C., Araújo, O. (2000). Optimization of a sequencing batch reactor for biological nitrogen removal. *Water Research* 34(10): 2809-2817.
- Csuros, C., Csuros, M. (1999). Microbiological examination of water and wastewater Lewis Publishers.
- da Motta M. (2001a). Applications d'Analyse d'Images à la Caractérisation de la microfaune de Stations d'Épuration des Eaux Usées, Tese PHD., École Nationale Supérieure des Industries Chimiques, Nancy.
- da Motta M., Pons, M.N., Vivier, H., Amaral, A.L., Ferreira, E.C., Roche, N., Mota, M. (2001b). Study of Protozoa Population in Wastewater Treatment Plants by Image Analysis. *Brazilian Journal of Chemical Engineering* 18 : 103-111.
- Dan, N.P. (2001). Biological treatment of high salinity wastewater using yeast and bacterial systems Tese de Doutorado, Asian Institute of Technology-School of Environment, Resources and Development, Bangkok, Thailand.
- Dickneider, T. (2002). Dupont's Technology for Polyester Regeneration. American Chemistry Society.
- Dougherty, E.R. (1994). Digital Image Processing Methods, Marcel Dekker Inc.
- Eckenfelder, W. (2000). Activated Sludge Process design and control: Theory and Practice. 3ª Ed, McGraw-Hill, New York.
- Edwards, C. (1990). Microbiology of extreme environments. McGraw-Hill.
- Ferraz, A.O., Gobbi, E.F. (1991). Nitrificação/Denitrificação em Reator Batelada Sequencial (SBR) Trabalho Interno, COPPE/UFRJ.
- Ferreira, E. (2000). Cinética Química e fundamentos dos processos de nitrificação e desnitrificação biológica. XXVII Congresso Internacional de Engenharia Sanitária e Ambiental, Brasil.

- Freire, D.D.C., Sant'Anna Jr. (1998). A Proposed Method Modification for the Determination of Cod in Saline Waters. *Environmental Technology* 19: 1243-1247.
- Ganczarczyk, J. (1983). *Activated Sludge Process: Theory and Practice*. Marcel Dekker, INC. New York, USA.
- Ganczarczyk, J. (1994). Microbial Aggregates in Wastewater Treatment, *Water Science & Technology* 30(8): 87-95.
- Gaspar, P. (2003). Pós-Tratamento de Efluente de Reator UASB em sistema de Lodos Ativados visando a remoção biológica do nitrogénio associada à remoção físico-química do fósforo Tese de Mestrado, Escola Politécnica da Universidade de S. Paulo, S. Paulo, Brasil.
- Gharsallah, N., Khannous, L., Souissi, N., Nasri, M. (2002). Biological treatment of saline wastewaters from marine-products processing factories by a fixed-bed reactor. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 77: 865-870.
- Ginoris, Y. (2006). Aplicação das técnicas de análise de imagens para monitorar a sedimentabilidade nos sistemas de tratamento por lodos ativados. Tese de Doutorado, UFRJ/EQ, Rio de Janeiro, Brasil.
- Grady, C.P.L., Lim, H. (1980). *Biological Wasterwater Treatment: Theory and Application*. Marcel Dekker, New York.
- Grijnspeerdt, K., Verstraete, W. (1997). Image Analysis to Estimate the Settleability and Concentration of Activated Sludge. *Water Research* 31: 1126-1134.
- Hamoda, M.F., Al-Attar, M.S. (1995). Effects of high sodium chloride concentrations on activated sludge treatment. *Water Science & Technology* 31(9): 61-72.
- Intrasungkha, N., Keller, J., Blackall, L.L. (1999). Biological nutrient removal efficiency in treatment of saline wastewater. *Water Science & Technology* 39: 183-90.
- Jenkins, D., Richard, M., Daigger, G. (2004). *Manual on the causes and control of activated sludge bulking, foaming and other solids separation problems*. IWA publishing.

- Dinçer, AR, Kargi, F. (1999). Salt inhibition of nitrification and denitrification in saline wastewater. *Environmental Technology* 20, 1147–53.
- Kargi, F., Dinçer, AR. (1997). Biological treatment of saline wastewater by fed-batch operation. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 69: 167–72.
- Kargi, F., Dinçer, A.R. (1999). Salt inhibition effects in biological treatment of saline wastewater in RBC. *Journal of Environmental Engineering ASCE* 25: 966–971.
- Kargi, F., Dinçer, A.R. (1996). Effect of salt concentration on biological treatment of saline wastewaters by fed-batch operation. *Enzyme & Microbial Technology* 19: 529–537.
- Kargi, F., Uygur, A. (1997). Biological treatment of saline wastewater in a rotating contactor by using halophilic organisms. *Bioprocess Engineering* 17: 81–85.
- Kargi, F., Dinçer, A.R. (1998). Saline wastewater treatment by halophile-supplemented activated sludge culture in an aerated rotating biodisc contactor. *Enzyme & Microbial Technology* 22: 427–433.
- Kincannon, D.F., Gaudy, A.F. (1968). Response of biological waste treatment systems to changes in salt concentrations. *Biotechnology Bioengineering* 10: 483–496.
- Kincannon, D.F., Gaudy, A.F. (1966). Some effects of high salt concentration on activated sludge. *Journal of Water Pollution Control Federation* 38: 1148–1158.
- Lima, A., Ribeiro, R., Ginoris, Y., Coelho, M.A.Z. (2005). *Remoção Biológica de Fenol e Nitrogênio Amoniacal de Efluentes em Reator Batelada Sequencial*. COBEQIC, S.Paulo, Brasil.
- Liu, Y., Fang, H.P. (2003). Influences of Extracellular Polymereic Substances (EPS) on flocculation, Settling and Dewatering of activated sludge. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 33(3): 237–273.
- Ludzack, F.J., Noran, P.K. (1965). Tolerance of high salinities by conventional wastewater treatment process. *Journal of Water Pollution Control Federation* 37: 1404–1416.

- Madoni, P. (1994). A sludge Biotic Index (SBI) for the evaluation of the biological performance of activated sludge plants based on the microfauna analysis. *Water Research* 28: 67-75.
- Mariano, B.J. (2001). Impactos Ambientais do Refino de Petróleo, Tese de Mestrado, COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, Brasil.
- Martins, M., Nicolau, A., Mota, M., Lima, N. (2002). A importância da microfauna como ferramenta de trabalho em estações de tratamento de águas residuais. 10º Congresso Nacional de Saneamento Básico, Universidade do Minho, Braga.
- Méndez, R., Omil, F., Soto, M., Lema, J.M. (1992). Pilot-plant studies on the anaerobic treatment of different wastewaters from fish canning factory. *Water Science Technology* 25(1): 37-44.
- Metcalf, Eddy (1991). *Wastewater engineering treatment, disposal and reuse*. 3ª Ed., New York, McGraw-Hill.
- McSwain, B.S., Irvine, R.L., Wilderer, P.A. (2004). The influence of settling time on the formation of aerobic granules. *Water Science & Technology* 50(10): 195-202.
- Moon, B.H., Seo, G.T., Lee, T.S., Kim, S.S., Yoon, C.H. (2002). Effects of salt concentration on floc characteristics and pollutants removal efficiencies in treatment of seafood wastewater by SBR. *Water Science & Technology* 47(1): 65-70.
- Moreira, M.C. (1995). Tratamento de Efluentes Vinícolas. Universidade do Minho, Tese de Mestrado. Engenharia Biológica, Braga, Portugal.
- Moreira, P. (2001). Arranque e optimização do funcionamento da ETAR da ACPB. Relatório de Estágio da Licenciatura em Engenharia Biológica, Braga, Portugal.
- Nicolau, A., Martins, M., Mota, M., Lima, N. (2002). Importância da identificação das espécies responsáveis pelo crescimento filamentoso nas ETARS. 10º Congresso Nacional de Saneamento Básico, Universidade do Minho, Braga.
- Panswad, T., Anan, C. (1999). Specific oxygen, ammonia, and nitrate uptake rates of a biological nutrient removal process treating elevated salinity wastewater. *Bioresource Technology* 70: 237-243.

- Russ, C.R. (1995). *The Image Processing Handbook*, CRC Press, Boca Raton.
- Russo, C. (1998). *Controle da Poluição das Águas Residuárias*. ed. UERJ, Rio de Janeiro, Brasil.
- Salvado, H., Mas, M., Menéndez, S., Gracia, M^a. (2001). Effect off shock loads of salt on protozoan communities of activated sludge. *Acta Protozoologica* 40: 177-185.
- Seviour, R.J., Blackall, L.L. (1999). *The microbiology of activated sludge*. Kluwer academic publishers.
- Souza, J.T., Foresti, E. (2000). Domestic Sewage Treatment in na Upflow Anaerobic Sludge Blanket - Sequencing Batch Reactor System. *Water Science and Technology* 33(3): 73-84.
- Uygur, A., Kargi, F. (2004). Salt inhibition on biological nutrient removal from saline wastewater in a sequencing batch reactor. *Enzyme & Microbial Technology* 34: 313-318.
- Uygur, A. (2006). Specific nutrient removal rates in saline wastewater treatment using sequencing batch reactor. *Process Biochemistry* 41: 61–66.
- Wilén, B.M., Jin, B., Lant, P. (2003). Impacts of structural characteristics on activated sludge floc stability. *Water Research* 37: 3632-3645.
- Wilén, B.M., Keiding, K., Nielsen, P. (2004). Flocculation of activated sludge flocs by stimulation of the aerobic biological activity. *Water Research* 38: 3909-3909.
- Wilén, B.M., Keiding, K., Nielsen, P. (2000). Influence of microbial activity on the stability os activated sludge. *Colloids Surf. B: Biointerfaces* 18: 145-156.
- Woolard, C.R., Irvine, R.L. (1995). Treatment of hypersaline wastewater in the sequencing batch reactor. *Water Reseach* 29: 1159-1168.